

**Interaktion von Interleukin-17 und Interferon-Gamma
im Immunsystem und Nervensystem –
eine vergleichende Literaturanalyse**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität

von:

Franz Slowik

geboren am:

14.06.1992 in Altdöbern

Gliederung

Zusammenfassung	3
1. Einleitung	6
2. Interferon- γ	8
2.1. Rezeptor	9
2.2. Signaltransduktion und Genexpression	10
3. Interleukin-17	16
3.1. Rezeptoren	17
3.2. Signaltransduktion und Genexpression	19
4. Interleukin-17 und Interferon- γ im peripheren und zentralen Nervensystem	
4.1. Interleukin-17	25
4.2. Interferon- γ	33
5. Funktion und Bedeutung von Th-17-Zellen	43
5.1. Th-17-Differenzierung	48
5.2. Th-17-Differenzierung beim Menschen	55
6. Funktion und Bedeutung von Th-1-Zellen	59
7. Interaktion von Interleukin-17 und Interferon- γ	62
7.1. Masterregulator-vermittelte Inhibition	71
7.2. STAT-vermittelte Interaktion	78
8. Nachweis einer vorherrschenden Interaktion	
8.1. Synergistische Wirkungen zwischen Interleukin-17 und Interferon- γ	92
8.2. Plastizität der T-Helfer-Zelluntergruppen	103
9. Abkürzungsverzeichnis	114

10. Literaturverzeichnis	123
11. Anhang	145

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit den Zytokinen Interleukin 17 (IL-17) und Interferon- γ (IFN- γ). Bei Immunvorgängen können diese Zytokine sowohl synergistisch als auch antagonistisch wirken. Unsere Arbeitsgruppe fand, dass beide Zytokine auch die neuronale Aktivität der peripheren Nervenfaserverendigungen und der Neurone im Rückenmark und damit die Schmerzerzeugung verändern können, wobei sich diese Zytokine auch hier gegenseitig beeinflussen. Die Wirkmechanismen dieser Zytokine an Nervenzellen sind allerdings kaum untersucht. Die vorliegende Arbeit sollte darstellen, was über Funktionen, Rezeptoren, Signalkaskaden und Interaktionen von IL-17 und IFN- γ in Immunzellen und im Nervensystem bekannt ist und welche Untersuchungen das Verständnis der neuronalen Wirkungen erweitern könnten.

IL-17A gilt als Prototyp der IL-17-Familie aus 6 Mitgliedern (IL-17A–IL-17F) und wird zumeist nur als IL-17 bezeichnet. Über andere IL-17-Subtypen ist weniger bekannt. Im ZNS wird IL-17 durch einwandernde $\gamma\delta$ T- oder Th-17-Zellen oder durch die ZNS-ansässige Mikroglia und Astroglia gebildet. IFN- γ stammt aus eingewanderten Th-1- oder NK-Zellen und aus Astrozyten. In Abhängigkeit vom untersuchten Modell und Zelltyp vermitteln beide Zytokine sowohl pro- oder antineurogene, pro- oder anti-inflammatorische Wirkungen und die Abwehr von verschiedenen Erregern im Gehirn. IL-17A aus $\gamma\delta$ T-Zellen verstärkt die Hirnschädigung in der akuten Phase eines Schlaganfalls, IL-17A aus Astrozyten begünstigt das Überleben und die neuronale Differenzierung von neuronalen Stamm-/Progenitorzellen und die anschließende Synaptogenese nach einem Schlaganfall. IFN- γ aus Th-1-Zellen ist an der Induktion der Experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE) beteiligt, während IFN- γ aus Astrozyten neuroprotektiv wirkt.

Beide Zytokine verändern die neuronale Erregbarkeit von peripheren Nervenfaserverendigungen und Neuronen des Rückenmarks und tragen zur Schmerzerzeugung bei Entzündungen bei. Die hierbei involvierten molekularen Mechanismen sind kaum erforscht. In kultivierten DRG-Neuronen der Ratte bewirkte IL-17 eine rasche Phosphorylierung von PKB/AKT und ERK. Für IFN- γ sind noch keine molekularen nozizeptiven Mechanismen bekannt.

IL-17 und IFN- γ beeinflussen die Genexpression und/oder Differenzierungsprozesse in neuronalen und nicht-neuronalen Zellen. In Immunzellen aktiviert IL-17 drei wichtige Down-Stream-Signalwege – NF- κ B, MAPK und C/EBP, während IFN- γ bevorzugt STAT1, ISRE und IRF-1 stimuliert. Ein Teil dieser typischen Signalwege wurde auch auf Nervenzellen nachgewiesen. IFN- γ aktiviert in primären Hippocampusneuronen und Astrozyten STAT1. IL-17 aktiviert in Neuroektoderm-abgeleiteten Zellen, Astrozyten und NG2+ Gliazellen Act1. In Astrozyten stimuliert IL-17 einen Act1-abhängigen-NF- κ B-Weg und verschiedene MAP-Kinasen wie p38, JNK und ERK.

Linien spezifische Transkriptionsfaktoren und spezifische STAT-Faktoren stimulieren die Differenzierung von CD4+T-Zellen zu Th-17- oder Th-1-Zellen. ROR- γ t und STAT3 induzieren die Differenzierung von CD4+T-Zellen zu IL-17-produzierenden Th-17-Zellen. Th-1-Zellen exprimieren T-bet und STAT1, die kooperativ für eine Differenzierung von CD4+T-Zellen zu IFN- γ -produzierenden Th-1-Zellen benötigt werden. T-bet und ROR- γ t sind spezifisch für T-Zellen, während eine STAT1- und STAT3-Aktivierung auch in Astrozyten, DRG-Neuronen oder Dendritischen Zellen möglich ist. Über STAT1 und T-bet wirkt IFN- γ auch als negativer Regulator der Differenzierung von Th-17 Zellen. Hierbei ist STAT1 für eine Inhibition der IL-17A- und IL-17F-Expression ausschlaggebend, während T-bet eine Inhibition der ROR- γ t Expression vermittelt. Dagegen ist eine hemmende Wirkung von IL-17 auf die Differenzierung von Th-1-Zellen umstritten und nur auf spezifische Versuchsmodelle anwendbar. IL-17 bewirkte nur eine mäßige STAT3-Aktivierung, die nur an DRG-Neuronen nachgewiesen wurde. Allerdings wirkt IL-17 an einer positiven Rückkopplungsschleife von IL-6 aus Astrozyten und synovialen Fibroblasten mit und könnte auf diese Weise IL-6-abhängige STAT3- und ROR- γ t-Signale nutzen. Über limitierende Wirkungen von STAT3 und ROR- γ t auf Faktoren der Th-1-Differenzierung ist nichts bekannt. Somit scheint eine gegenseitige Regulation der hauptproduzierenden Th-1- und Th-17-Populationen lediglich aus Sicht des IFN- γ zutreffend.

Neuere Studien zeigen in nicht-neuronalen und neuronalen Zellen komplexe Beziehungen zwischen IL-17 und IFN- γ und ihren hauptproduzierenden Th-1- und Th-17-Populationen, im Besonderen durch den Nachweis sogenannter IFN- γ (+)IL-17(+)Th-1/Th-17-Populationen und synergistischer IL-17- und IFN- γ -Wirkungen. Eine fortschreitende Konvertierung von IL-17(+)T-Zellen zu IFN- γ (+)IL-17(+)T-Zellen bis hin zu IFN- γ (+)T-Zellen wirft wichtige Fragen

auf. Gibt es tatsächlich unterschiedliche T-Helfer-Zelluntergruppen oder exprimieren sie je nach extrinsischem Einfluss andere linienspezifische Transkriptionsfaktoren und Zytokine? Welche Untergruppe von T-Helfer-Zellen ist wirklich pathogenen Ursprungs, und sind für den Krankheitsverlauf verschiedener Leiden tatsächlich Th-17-Zellen ausschlaggebend oder sind diese nur ein Zwischenschritt zu pathologisch wirksamen IFN- γ (+)Th-1-Zellen? Offensichtlich ist jedoch eine enge Beziehung zwischen IL-17 und IFN- γ im pathologischen Verlauf vieler Krankheitsbilder.

In das ZNS eingewanderte T-Zellen zeigen wahrscheinlich ähnliche Interaktionen von IL-17 und IFN- γ wie periphere T-Zellen des Immunsystems. Ein vergleichbarer Interaktionsmechanismus auf ZNS-ansässigen Zelltypen, wie Mikroglia, Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke, Neuronen oder Astrozyten, scheint aus heutiger Sicht jedoch unwahrscheinlich. Allerdings wurden auf vielen ZNS-ansässigen Zelltypen (z.B. Astrozyten, Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke, Oligodendrozyten) die klassischen Signalwege des IL-17 und IFN- γ nachgewiesen, und darüber hinaus auf primären Neuronen des Hippocampus im Falle von IFN- γ ein untypischer STAT1-unabhängiger ERK 1/2- Signalweg. Somit sind ein Interaktionsmechanismus zwischen IL-17 und IFN- γ auf Basis ihrer klassischen Down-Stream-Signale und darauf beruhenden Genexpressionen oder untypische Signalwege wie im Falle von IFN- γ nicht auszuschließen. Auch im peripheren Nervensystem existieren Hinweise auf einen schnellen Interaktionsmechanismus zwischen IL-17 und IFN- γ .

1. Einleitung

Wenn man in der PubMed-Datenbank den Suchbegriff „Cytokine“ eingibt, findet man die Zahl von 733.061 Publikationen (Stand: 17. Januar 2018). Dabei ist die Zahl der erfassten Arbeiten von den ersten beiden im Jahr 1947 um 29.701 allein im Jahr 2017 angestiegen. Dies mag die immense Wichtigkeit verdeutlichen, die den Zytokinen heute beigemessen wird. Zytokine sind Proteine mit vielfältigen Funktionen in physiologischen und pathophysiologischen Prozessen. Sie regulieren das Wachstum und/oder die Differenzierung anderer Zellen im Organismus und sie erfüllen die Aufgabe von direkt wirksamen Botenstoffen in der funktionellen Signalübertragung. Zytokine lassen sich in fünf Hauptgruppen einteilen: die Interferone, die Interleukine, die koloniestimulierenden Faktoren, die Tumornekrosefaktoren und die Chemokine.

Das Forschungsgebiet im Institut für Physiologie ist u.a. auf die Mechanismen der Nozizeption im gesunden und im rheumatisch entzündeten Gelenk gerichtet. Neben den klassischen Entzündungsmediatoren, wie dem $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ oder IL-6 , haben sich die Forschungen in der Vergangenheit mehr auf die bei Gelenkentzündungen bedeutsamen Zytokine gerichtet. So wurde festgestellt, dass eine Reihe der als entzündungsfördernd beschriebenen Zytokine in der Lage ist, periphere Neurone zu sensibilisieren, wie z.B. die Zytokine $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-17 und der Tumornekrosefaktor $\text{TNF-}\alpha$. Dagegen wirkte Interferon- γ ($\text{IFN-}\gamma$) desensibilisierend. Es wäre daher einfach zu folgern, dass ähnlich einem zwei-Zügel-Modell das eine Zytokin die Wirkung des anderen hemmen oder sogar ganz aufheben könnte. Die Realität zeigt aber, dass eine so einfache mechanistische Betrachtung nicht zutrifft und eher komplexe Wechselwirkungen bestehen.

Die nachfolgende Arbeit thematisiert die immunologische Interaktion von Interferon- γ ($\text{IFN-}\gamma$) und Interleukin 17 (IL-17). IL-17 und $\text{IFN-}\gamma$ treten vermehrt bei klinisch-relevanten Autoimmunerkrankungen auf und werden unmittelbar mit deren Ausprägung in Verbindung gebracht. Beide Zytokine werden in der immunologischen Literatur häufig im Kontext behandelt, da sie sowohl synergistische als auch antagonistische Wirkungen auf Immunvorgänge ausüben können. Daher besteht ein großes Interesse an der Aufklärung ihrer zugrundeliegenden molekularen Wirkungsmechanismen, sowie ihres synergistischen oder antagonistischen Wechselspiels zueinander.

Neben ihrer pathologischen Bedeutung sind beide Zytokine auch für physiologische Funktionen bedeutsam. So konnten Untersuchungen in der Neurophysiologie zeigen, dass die neuronale Erregbarkeit peripherer Nervenfaserverendigungen oder von Neuronen im Rückenmark durch diese Zytokine sowohl im gesunden Zustand als auch unter Bedingungen einer Gelenkentzündung modifiziert wurde. Somit verknüpfen sich immunologische und neuro(physio)logische Aspekte und lassen den Begriff einer „Neuroimmunologie“ am Beispiel dieser Zytokine neu beleuchten: Zytokine haben mehr Funktionen im Organismus, als nur Entzündungszellen an einen Herd heranzuführen und zur Freisetzung von Mediatoren anzuregen.

Diese Prozesse sind überaus komplex, teilweise nur in in vitro-Ansätzen oder Modellexperimenten belegt oder auch nur für ganz bestimmte Spezies nachweisbar. Daher unternimmt die vorliegende Arbeit den Versuch, als eine Literaturübersicht die bisherigen Kenntnisse zusammenzufassen. Die drei wesentlichen Anliegen sind 1. eine umfassende Beschreibung der grundsätzlichen Signalwege von IL-17 und IFN- γ , 2. die Darstellung der Signalwege dieser Zytokine im peripheren und zentralen Nervensystem und 3. die Erarbeitung einer Synthese der Fakten zur Interaktion beider Zytokine bzw. mit anderen Zytokinen.

Somit soll das Verständnis für die eigenen Beobachtungen vertieft, eine Basis für weitere Forschungen geliefert und die Möglichkeit gegeben werden, neue experimentelle Ansätze aufzufinden.

2. Interferon- γ

IFN- γ gehört zur Gruppe der proinflammatorischen Zytokine (8, 87, 183) und wird zur großen Familie der Interferone gezählt (207). Ihrer Rezeptorzugehörigkeit entsprechend, wird die Interferonfamilie in weitere 3 Hauptklassen untergliedert: 1. Typ 1-IFN: IFN- α ; - β ; - δ ; - ϵ ; - ω ; - κ ; - τ ; - ζ ; 2. Typ 2-IFN: IFN- γ ; 3. Typ 3-IFN: IFN- λ 1/IL-29; IFN- λ 2/IL-28 A; IFN- λ 3/IL-28B (207). Der Kodierungsort des N-glykosylierten Homodimers (200) befindet sich auf Chromosom 10 der Maus (Chromosom 12 beim Menschen) (191) und weist nach abgeschlossener Translation eine Größe von 17 kDa auf (200). IFN- γ erfüllt unabdingbare Funktionen im Rahmen der Wirtsabwehr (17, 191, 196, 200, 231) und wirkt sich förderlich auf die Antigenpräsentation (17, 43, 115, 200) und Aktivitätsregulation zahlreicher Zellen des Immunsystems aus (17), unter anderem wirkt es auf Makrophagen (43, 115, 191, 200, 207). Diesem Umstand geschuldet, kommt ihm auch eine pathologisch bedeutsame Rolle bei der Ausprägung entzündlicher Prozesse und menschlicher Autoimmunerkrankungen zu (115, 183, 196).

Seine Synthese und Freisetzung erfolgt am stärksten durch mitogene und antigene Einflüsse (196, 200). Ungeachtet dessen scheint die Freisetzung des IFN- γ entscheidend von der Wechselwirkung mit anderen Zytokinen abzuhängen (200). Dabei korreliert die Wirkung von Interleukin-12 (IL-12) (43, 140, 191, 196, 200), Interleukin-18 (IL-18) (140, 191, 196, 200) und dem IFN- γ selbst (17) mit einer verstärkten Induktion von IFN- γ . Die Synthese von IFN- γ konnte sowohl in natürlichen Killerzellen (NK) (17, 43, 140, 191, 196, 200, 207), B-Zellen (196), Makrophagen, natürlichen Killer-T-Zellen (NKT) (115, 140), CD4⁺ Th-1-Zellen (43, 140, 191, 196, 200) als auch CD8⁺ zytotoxischen Lymphozyten (17, 115, 191, 196, 200) lokalisiert werden, wobei den CD4⁺ spezifischen Th-1-Zellen eine besondere Rolle einzuräumen ist (43, 196). Seine Wirkung entfaltet IFN- γ größtenteils über zahlreiche Genexpressionen, die als Resultat seiner Signaltransduktion entstehen (17, 140, 200). Als Folge der Geninduktionen werden die antimikrobiellen und antiviralen Proteine Mx, PKR, OAS, iNOS (196, 200), die Chemokine IL-10, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP1, RANTES (17), die Adhäsionsmoleküle CD54, CD40 (87) und die Komplexe MHC-II/MHC-I (183, 191) gebildet. Weiterhin gilt IFN- γ als Induktor des linienspezifischen Transkriptionsfaktors T-bet, der

typisch für Th-1-Zellen ist und im späteren Verlauf noch genauer betrachtet wird (43, 79, 108, 219).

2.1. Rezeptor des Interferon- γ

IFN- γ ist bekannt dafür, über einen spezifischen Rezeptor-Komplex zu signalisieren, der ubiquitär auf allen kernhaltigen Zellen exprimiert wird (51) und einen Großteil seiner Signale über eine vorherrschende JAK/STAT-Kaskade vermittelt (Abb. 1) (140, 174, 191, 200, 207, 219). Aufgebaut ist der Rezeptorkomplex aus zwei heterogenen Untereinheiten bzw. Ketten, einer IFNGR1-Untereinheit (Alpha-Kette) und einer IFNGR2-Untereinheit (Beta-Kette) (43, 71, 81, 95, 117, 174, 191, 207, 219).

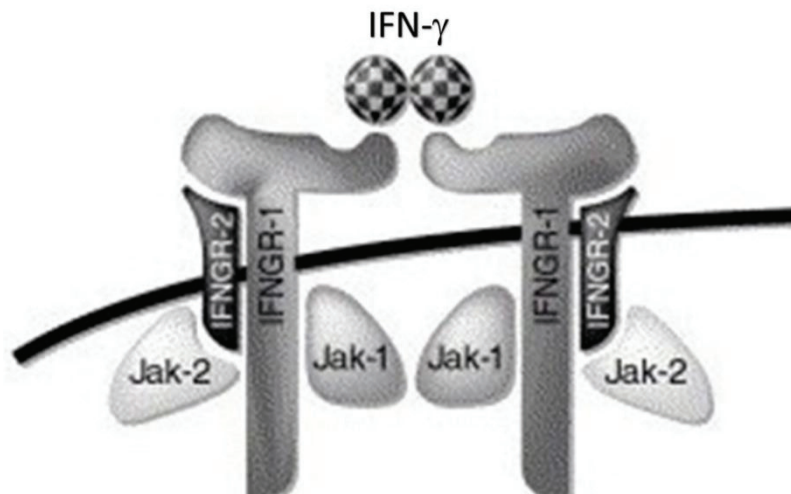


Abb. 1: Schematische Abbildung eines IFN- γ -Rezeptors, sowie seiner funktionellen Komponenten, modifiziert nach (200).

Dargestellt ist ein IFN- γ -Rezeptorkomplex, bestehend aus einer IFNGR1 (α -Kette) und IFNGR2 (β -Kette) und daran gebundenen Janus-Kinasen. Die IFNGR1-Ketten stehen in Verbindung mit der Janus-Kinase 1 (JAK1) und besitzen eine Liganden-Bindungsstelle für IFN- γ . Demgegenüber tritt die IFNGR2-Kette in Assoziation mit der Janus-Kinase 2 (JAK2) auf.

Beide Ketten werden für eine vollständige biologische Aktivität benötigt (44). Während die Expression der IFNGR1-Kette auf moderaten Niveaus auf nahezu allen kernhaltigen Zellen stattzufinden scheint, wird die IFNGR2-Kette konstitutiv nur in extrem niedrigen Konzentrationen exprimiert, so dass ihre Expression in bestimmten Zelltypen durch äußere

Stimuli reguliert werden muss (7). Die Ketten des Rezeptorkomplexes sind zur Interaktion befähigt (95, 196) und stehen in direktem Kontakt mit intrazellulär gebundenen JAKs (JAK-Protein-Tyrosinkinasen) (95, 200). Diese JAKs nehmen eine entscheidende Rolle in der Signalweiterleitung (17, 95, 182) und der davon abgeleiteten Genexpression ein (81). Quellen zufolge steht die Alpha-Kette in Verbindung mit JAK1 (81, 95, 191, 195, 207) und verfügt über eine Liganden-Bindungsstelle (81, 95, 174, 191, 200). Die Beta-Kette geht eine Assoziation mit JAK2 ein (81, 95, 191, 196, 207).

Parallel zum nachfolgend dargelegten JAK/STAT-Signalweg wurden weitere Signalkaskaden des IFN- γ identifiziert, die an den IFN- γ vermittelten Genaktivierungen teilhaben (81, 174). Demnach konnte eine Aktivierung von MAP-Kinasen (81, 174), Phosphoinositid-3-Kinasen (PI3K) (81, 174), Protein-kinase B (AKT) (174), NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) (81, 174) und der Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (Cam Kinase II) (81) festgestellt werden. Diese Signalkaskaden standen nicht im Mittelpunkt der Betrachtungen und werden daher hier nicht weiter beschrieben.

2.2. Signaltransduktion von Interferon- γ und Genexpression

Nachdem der Ligand an den Alpha-Ketten gebunden hat (81, 95, 174, 200), erfolgt eine Konformationsänderung der Rezeptorketten (196), die in eine anschließende Dimerisierung (8, 200) und Öffnung der intrazellulär-gelegenen Domänen der unterschiedlichen Rezeptorketten mündet (81, 95, 196). Daraus resultiert eine gegenseitige Phosphorylierung der jeweiligen JAK2- und JAK1-Kinasen (17, 71, 81, 95, 117, 174, 196), die eine unmittelbare Veränderung ihrer Aktivitätszustände hervorruft (17, 95, 174, 196, 200, 207). Zur Phosphorylierung befähigt, vermitteln die aktivierten JAK-Kinasen einen entscheidenden Einfluss auf vorliegende STAT1-Faktoren (17, 71), indem sie eine Phosphorylierung, Rekrutierung und Aktivierung dieser Transkriptionsfaktoren ermöglichen (17, 81, 117, 140, 174, 191, 196). Die phosphorylierten STAT1-Faktoren treten in Synergie miteinander und verbinden sich zu einem STAT1-Homodimer (8, 17, 71, 81, 117, 140, 191, 196, 207), welches gleichzeitig den Transkriptionskomplex gamma-interferon activation factor (GAF) darstellt (siehe Abb. 2) (17, 191, 196, 200, 207). GAF kann an für ihm spezifische DNA-Promotorfrequenzen, wie gamma-interferon-activation sites/sequence

(GAS), binden und eine gezielte Transkription von Genen einleiten (17, 71, 81, 140, 191, 196, 200, 207).

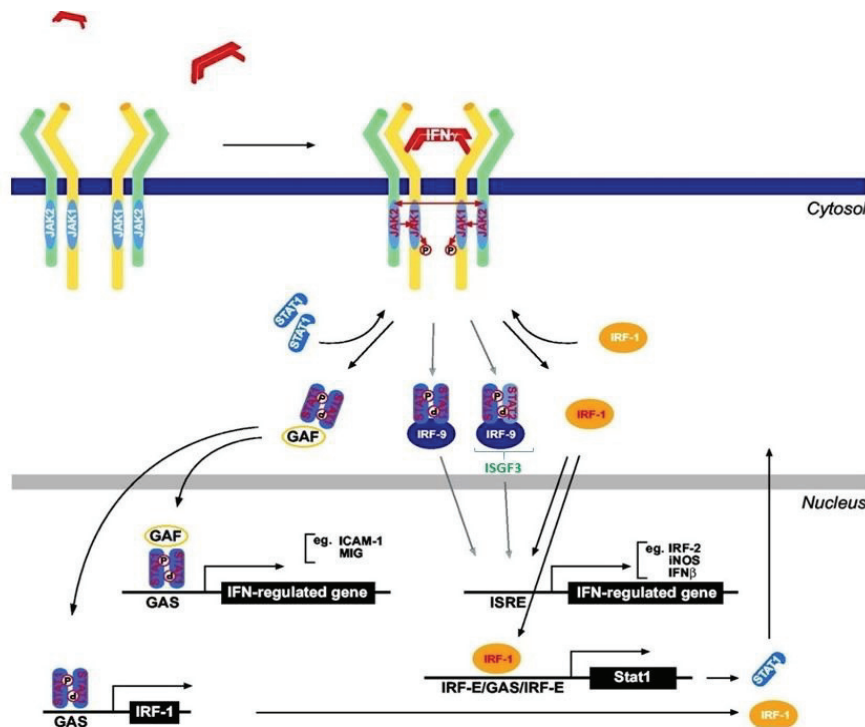


Abb. 2: Signaltransduktion des IFN- γ und seine übergreifende Funktion auf den Signalweg von IFN- α/β , entsprechend des Modells von (196).

Die Bindung des IFN- γ Liganden (rot) verursacht eine Konformationsänderung im IFN- γ -Rezeptor, sowie zugehörigen Rezeptorketten IFNGR1 (gelb) und IFNGR2 (grün). Die von IFN- γ aktivierten Signalmoleküle sind mit roter Schrift hervorgehoben. Es resultiert eine Autophosphorylierung und Aktivierung der inaktiven JAK2-Kinasen, die wiederum eine Transphosphorylierung und Aktivierung von JAK1 einleiten. Die aktivierten JAK1-Kinasen phosphorylieren funktionell kritische Tyrosine-440-Reste an jeder IFNGR1-Kette und formen zwei benachbarte Bindungsstellen für die SH2-Domänen (Src homology domains) von potentiellen STAT1-Faktoren. Die zum Rezeptor rekrutierten STAT1-Paare erfahren eine Phosphorylierung am Y701-Rest. Als Folge dieser Phosphorylierung tritt eine Dissoziation des STAT1-Homodimers (GAF) vom Rezeptor ein. Im geringeren Maße bewirken die Signale des IFN- γ auch die Bildung von STAT1:STAT1:IRF-9 und STAT1:STAT2:IRF-9 (ISGF3). Die STAT1-Homodimere wandern in den Nucleus und binden an den Promotoren von IFN- γ -Aktivierungs-Sequenzen (GAS), die eine Initialisierung oder Unterdrückung der Transkription von IFN- γ -regulierenden Genen auslösen. Viele von den IFN- γ -regulierten Genen sind Transkriptionsfaktoren, einschließlich des IRF-1, die durch IFN- γ aktiviert und dazu befähigt sind, eine „nächste Welle“ der Transkription einzuleiten, wie z.B. eine Induktion von IFN- γ . Das STAT1:STAT1:IRF-9-Heterodimer, ISGF3 und IRF-1 können an verschiedene Promotorregionen von IFN-stimulierten reaktiven Elementen (ISRE) binden und die Transkription dieser Zielgene regulieren. Zusätzlich kann IRF-1 für eine verstärkte Transkription von STAT1 durch die Bindung einer ungewöhnlichen ISRE-Sequenz (IRF-E/GAS/IRF-E) ausschlaggebend sein. Unter der Mitwirkung der verschiedenen Signalwege des IFN- γ werden Gene wie ICAM-1, MIG, iNOS freigesetzt.

Viele der IFN- γ -induzierten Faktoren sind antiviraler und antimikrobieller Natur (200), hierunter fallen induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase-Isoform-2 (iNOS/iNOS2) (8, 17, 191, 196, 200), class II, major histocompatibility complex, transactivator (CIITA) (17, 196, 200), Interferon-regulatorischer Faktor 9 (IRF-9/p48) (17, 200), Interferon-regulatorischer Faktor 1 (IRF-1) (8, 17, 71, 115, 117, 140, 196, 200) und Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) (140, 200). Abgesehen von seinem eigenen Signalweg könnte IFN- γ über einen synergistischen Effekt verfügen, der es ihm ermöglicht, andere Signalwege der Interferon-Familie zu beeinflussen, einschließlich dem des IFN- α und IFN- β (17, 196, 200).

Es wurde gefunden, dass IFN- γ an einer Induktion des transkribierenden-Faktors IRF-9 (p48) beteiligt ist (17, 200), der zur Ausbildung eines zweiten wichtigen Transkriptionskomplexes ISGF3 (Interferon-stimulated gene factor 3) benötigt wird (196). Im Gegensatz dazu vermutet eine andere Gruppe, dass IFN- γ -abhängige Signalwege nur im geringen Ausmaß an einer Formung von STAT1:STAT1:IRF-9-Komplexen und STAT1:STAT2:IRF-9-Komplexen (ISGF3) mitwirken und keine Induktion von IRF-9 vornehmen (Abb. 2) (196). ISGF3 fungiert ebenfalls als Vermittler zahlreicher protektiver IFN- α/β -induktiver Gene (200), die im Zuge einer Bindung an die spezifische DNA-Promotorfrequenz ISRE (Interferon-stimulated response element) freigesetzt werden (17, 191, 200, 207). Parallel zu den beteiligten Komplexbildungen gibt es einen weiteren direkten Einflussfaktor IRF-1 (140, 200), der ohne zusätzliche Beteiligung anderer Faktoren an spezifische ISRE-Sequenzen binden (71, 140, 196, 200) und eine gezielte Transkription von Genen einleiten kann (140, 200).

Somit bewirkt IFN- γ die Aktivierung einer Vielzahl von Genen (140), die kritische Stützpfiler der Immunantwort darstellen (200). Damit begünstigt IFN- γ die Expression von CD54 (ICAM-1) (17, 87, 140, 196), CD40 (87), VCAM-1 (17), CCL20, MHC-II (17, 87, 191, 196), MHC-I (71, 117, 191, 200), sowie den niedermolekularen Proteinen PKR-Kinase (17, 191, 196, 200), 2'-5'-Oligoadenylatsynthetase (OAS) (17, 196, 200), Mx (191, 200) und iNOS (iNOS2) (8, 17, 191, 196, 200). Unter den Aspekt einer Aktivitätsregulation von Immunzellen könnten die von IFN- γ vermittelten Genexpressionen eine Migration von lymphatischen Zellen (17), eine Steigerung der antimikrobiellen Aktivität von Phagozyten (17, 43), eine effiziente Antigenpräsentation (43, 87, 115, 200) und Zell-Zell-Haftung (17, 87), sowie Resistenz vor schädlichen Erregern (17) begründen.

Andere Studien zeigten, dass IFN- γ zusätzlich eine wichtige Rolle in der T-Zell-spezifischen Differenzierung einnimmt. Darin wurde über eine IFN- γ -abhängige Induktion des linienspezifischen Transkriptionsfaktors T-bet berichtet (6, 43, 108, 219, 237), der unmittelbar mit einer Th-1-Spezialisierung in Verbindung gebracht wurde (43, 219).

Zusammenfassend ist IFN- γ ein potentes proinflammatorisches Zytokin, das wichtige Funktionen in der angeborenen und adaptiven Immunität erfüllt (183, 191, 200). IFN- γ verstärkt die angeborene zellvermittelte Immunität durch NK-Zellen (191, 200); die spezifische zytotoxische Immunität basierend auf einer Erkennung von Zelloberflächen-gebundenen viralen Antigenen (191, 200); die Antigenpräsentation durch Histokompatibilitätskomplexe MHC-I und MHC-II (17, 43, 191, 196, 200); die Induktion von chemotaktischen Lockstoffen (17, 196); die Leukozyten-Endothelium-Interaktion (17); eine Inhibition der Zellproliferation (196); die Phagozytose (183) und die antimikrobielle Aktivität von Makrophagen (43, 191). Einige dieser Immunantworten spielen bei den antiviralen und antimikrobiellen Wirkungen von IFN- γ (191) und bei entzündlichen Erkrankungen eine wichtige Rolle (87) (siehe Tabelle 1: IFN- γ -induzierte Genexpressionen).

Die Signale des IFN- γ werden über eine JAK/STAT-Kaskade (140, 174, 191, 200, 207, 219) und einen heterogenen Rezeptorkomplex weitergeleitet (51, 65, 217). Dieser wird ubiquitär auf allen kernhaltigen Zellen exprimiert (51, 65, 217) und umfasst zwei verschiedene Untereinheiten: IFN- γ R1 (α -Kette) und IFN- γ R2 (β -Kette) (43, 71, 81, 95, 117, 174, 191, 207). Nach einer Bindung des IFN- γ Homodimers an den Rezeptorkomplex erfolgt eine Aktivierung und Phosphorylierung des Rezeptors (17, 95, 174, 196, 200, 207), die in einer Aktivierung von nachgeschalteten Transkriptionsfaktoren mündet, von denen STAT1 als wichtigster Vertreter zu benennen ist (17, 81, 117, 140, 174, 191, 196). Die STAT1-Homodimere wandern in den Nucleus und binden an den Promotoren von IFN- γ -Aktivierungs-Sequenzen (GAS), die eine Initialisierung oder Unterdrückung der Transkription von IFN- γ -regulierenden Genen auslösen (196) (siehe Tabelle 1: IFN- γ -induzierte Genexpressionen). Unter den zahlreichen Genen, die durch STAT1 aktiviert werden, gibt es ebenfalls Transkriptionsfaktoren, von denen T-bet (2, 86, 108, 179, 197, 229, 239) eine wichtige Rolle in der Th-1-Differenzierung (43, 219) und späteren Betrachtung einnimmt.

Tabelle 1: IFN- γ -abhängige Genexpressionen und Transkriptionsfaktoren

Hochregulation von Proteinen/Genen durch IFN- γ	Funktion	Refs.
MHC II	Präsentation von Fremd- und Selbstpeptiden auf der Zelloberfläche zur Immunüberwachung durch CD4+T-Zellen	(191, 196, 200)
MHC I	Präsentation von Fremd- und Selbstpeptiden auf der Zelloberfläche zur Immunüberwachung durch zytotoxische CD8+ T-Zellen	(117, 191, 196, 200)
PKR	Serin/Threonin-Kinase, die die Virusproteinsynthese durch Phosphorylierung der α -Untereinheit des eukaryotischen Translationsinitiationsfaktors (eIF-2) hemmt	(196)
2'5' OAS	Abbau von einzelsträngigen viralen RNAs und Hemmung des Viruswachstums	(17)
Mx	Mx-Proteine sind GTPasen, die den intrazellulären Transport von Viruspartikeln beeinflussen und die Virusreplikation inhibieren	(191, 200)
iNOS	Synthese von NO zur immunologischen Abwehr von mikrobiellen und viralen Pathogenen Beteiligung an der antimikrobiellen Aktivität von Makrophagen und der Pathogenese entzündlicher Autoimmunerkrankungen	(8, 191, 200) (191)
IL-10 (CXCL10)	chemotaktisch für Gedächtnis-T-Lymphozyten und Monozyten	(17, 196)
MIP-1 α (CCL3)	chemotaktisch für CD8+/-, CD4+/- und Gedächtnis-T-Zellen	(17, 196)
MIP 1 β (CCL4)	chemotaktisch für CD8+/-, CD4+/- und Gedächtnis-T-Zellen	(17, 196)
MCP-1	chemotaktisch für Monozyten/Makrophagen	(17, 196)
RANTES (CCL5)	chemotaktisch für Gedächtnis-T-Lymphozyten und Monozyten	(17, 196)
ICAM-1 (CD54)	Adhäsionsmolekül-Bindung an Lymphozytenfunktion-assoziiertes Antigen-1 und Mac1 kritischer Faktor einer robusten T-Zell-Haftung und verbesserten Antigenpräsentation von Fibroblasten-ähnlichen-Synoviozyten zu T-Zellen in der Rheumatischen Arthritis T-Zell-Aktivierung und Rekrutierung von Leukozyten zum Entzündungsort	(196) (97, 123, 145) (184)

CD40	Ligandenbindung von CD40 bewirkt eine vergrößerte Proliferation und Expression von CD54 und proinflammatorischen Zytokinen aus Fibroblasten-ähnlichen-Synoviozyten in der Rheumatischen Arthritis	(30, 134, 244)
VCAM-1	Adhäsionsmolekül-Bindung an „very late antigen-4“ T-Zell-Aktivierung und Rekrutierung von Leukozyten zum Entzündungsort	(196) (184)
SOCS1	Hemmung der nuklearen Translokation von STAT1 als Reaktion auf IFN- γ	(71, 140, 200)
Hochregulation von Transkriptionsfaktoren durch IFN-γ	Funktion	Refs.
CIITA	Transaktivator für die Induktion von Schlüsselgenen für die Bildung von MHC-II-Komplexen	(17, 196, 200)
IRF-1	Transkriptionsfaktor für die Induktion von MHCI-Komplexen durch IFN- γ Tumor-Suppressor-Gen, das für die Induktion von Apoptose durch Signale wie DNA-Schäden erforderlich ist Transkription von STAT1, PKR, iNOS	(17, 191, 196, 200) (196) (17, 196)
IRF-9	Bestandteil des trimeren ISGF-3-Komplexes, zusammen mit STAT1 und STAT2	(17, 191, 200)
IRGF3	Transkription von IFN- α/β -abhängigen Genen	(191, 200)
STAT1	Induktion des Th-1-spezifischen Transkriptionsfaktors T-bet Transkription von IFN- γ -induzierbaren Genen Modulation der Genexpression von IRF-1, MHC-I, PKR, iNOS	(2, 43, 108) (8, 191, 213) (8, 17, 191, 196, 200)

3. Interleukin-17

IL-17 ist ein proinflammatorisches Zytokin (14, 57, 94, 258). Die Funktionen des IL-17 reichen von protektiven Abwehrmechanismen gegenüber schädlichen Erregern (14, 43, 46, 47, 57, 164, 183, 258), bis hin zu pathologischen Wirkungen (46, 57, 164, 183). In diesem Zusammenhang wird es als maßgebender Faktor in der Ausprägung von menschlichen Autoimmunerkrankungen (47, 60, 70, 250, 262), fortschreitenden Entzündungsprozessen (57, 60), Krebs (57, 258, 262) und anderen Leiden betrachtet (77).

Insgesamt existieren 6 Mitglieder einer IL-17-spezifischen Familie (IL-17 A-F) (57, 94, 183, 250), von denen das IL-17A als wirksamster (70) und wichtigster Vertreter seiner Familie identifiziert wurde (47, 79, 96). Obwohl über die anderen Vertreter verhältnismäßig wenig bekannt ist (46), konnte man nachweisen, dass gewisse Gemeinsamkeiten existieren (96). Erstaunlicherweise gleicht das IL-17F dem IL-17A hinsichtlich seiner Proteinsequenz zu 53-56 % (12, 57, 70, 126), und bindet darüber hinaus am gleichen Rezeptorkomplex (46). Allerdings zeigt es eine wesentlich schwächere Wirkung und besitzt nicht das gleiche pathologische Potential (46, 96). IL-17A ist ein 35 kDa schweres homodimeres Glykoprotein, das aus 155 Aminosäuren aufgebaut ist (96). Der Kodierungsort des IL-17A ist auf dem Chromosom 1 der Maus (26) und dem Chromosom 6 des Menschen (26, 66, 94, 96). Das vollständig synthetisierte homodimere Glykoprotein besteht aus zwei aneinandergelagerten Monomeren, die durch intramolekulare Disulfidbrückenbindungen miteinander verknüpft sind (34, 96). Parallel zu diesen homodimeren Gebilden wurden heterogene Gefüge einer Kombination von IL-17A und IL-17F entdeckt, die den selben Rezeptorkomplex stimulieren (46). Hauptquelle des IL-17 sind CD4⁺ spezifische Th-17-Zellen (57, 183). Eine alternative Produktion konnte in Makrophagen (183), neutrophilen Granulozyten (6, 14, 94), natürlichen Killerzellen (NK) (6, 14, 94, 164, 183, 258), natürlichen Killer-T-Zellen (NKT) (94, 96, 164, 183), $\gamma\delta$ T-Zellen (6, 46, 57, 94, 96, 164, 183, 235, 258), B-Zellen (57), Monozyten (258) und zytotoxischen CD8⁺ spezifischen T-Zellen (57, 96, 235, 258) ausfindig gemacht werden. Vor allem Makrophagen, Monozyten, neutrophile Granulozyten und B-Zellen reagierten im Zuge einer schnellen Immunantwort über TLR-Rezeptoren mit einer Ausschüttung von IL-17 (96).

Die Wirkungen des IL-17 werden über umfangreiche Genexpressionen von entzündungsfördernden Mediatoren und katabolisch-wirksamen Stoffen vermittelt (24, 46, 72, 94, 183, 249). Seine Freisetzung erfolgt als Reaktion auf mikrobielle Stimuli, sowie viele andere Zytokine. Hierbei fungieren IL-1 β , IL-23, IL-6, IL-21 und TGF- β (6, 57, 96, 235) als positive Regulatoren, während IFN- γ , IL-12 und IL-27 den gegenteiligen Effekt hervorrufen (79).

3.1. Interleukin-17 Rezeptoren

Gegenwärtig sind 5 IL-17 Rezeptoren bekannt (IL-17 RA-RE) (46, 57, 94, 96, 250, 258), von denen besonders IL-17 RA eine bedeutsame Rolle zuzukommen scheint (250). IL-17 RA wird ubiquitär exprimiert (46, 57, 262). Kodiert ist das IL-17 RA-Gen auf dem Chromosom 22 des Menschen (96). Der Rezeptor besteht aus 866 Aminosäuren und besitzt 5 stabilisierende intrazellulär-gelegene Disulfidbrücken, sowie 7 N-glykosylierte Bindungen (96). Typisch für alle Arten von IL-17-Rezeptoren ist das Auftreten von extrazellulär gelegenen Fibronectin-III-Domänen (46, 47, 250, 262), einschließlich einer Fibronectin-III-Domäne 1 (D1) und Fibronectin-III-Domäne 2 (D2) (siehe Abb. 3) (96, 126). Beide fungieren im Rahmen der Signaltransduktion, indem sie das Signal der Liganden-Bindungsstellen aufnehmen und innerhalb des Rezeptors weiterleiten (96). Liganden-Bindungsstellen befinden sich in der N-terminalen Region, am zentralen β -Strang und am C-terminalen Ende des IL-17 RA-Rezeptors (96). Ungeachtet dessen wird davon ausgegangen, dass eine dieser Domänen eine wichtige Funktion als „pre-ligand assembly binding domain“ ausübt (96). Während früher die Auffassung vertreten wurde, dass einzelne Rezeptoren des IL-17 existieren (242), geht man heute von diversen Wechselwirkungen und Komplexbildungen unter den Rezeptoren aus (164). In diesen Zusammenhang scheinen IL-17 RA-Rezeptoren in Synergie mit IL-17 RC-Rezeptoren zu treten und umfassende Komplexbildungen zu durchlaufen (34, 47, 57, 164, 258). Neueste Arbeiten deuteten darauf hin, dass IL-17 RA-Rezeptoren untereinander Liganden-unabhängige Dimere bilden und erst nach erfolgreicher Liganden-Stimulation mit IL-17 die Formung eines heterogenen Rezeptorkomplexes vollziehen (Abb. 3) (46, 96). Diese heterogenen Rezeptorkomplexe könnten aus zwei IL-17 RA-

Untereinheiten und einem IL-17 RC-Fragment bestehen (46, 96) und die Fähigkeit besitzen, IL-17A und F zu binden (34, 57, 94, 164).

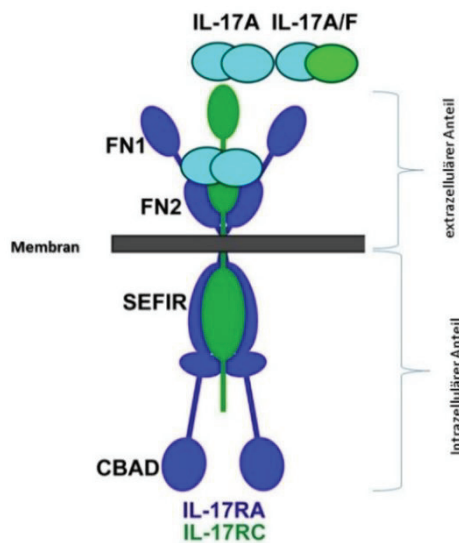


Abb. 3: Schematische Darstellung eines heterogenen IL-17-Rezeptorkomplexes und seiner zugehörigen Komponenten, modifiziert nach (46).

Der heterogene Rezeptorkomplex des IL-17A besteht aus den zwei homogenen IL-17 RA-Untereinheiten (blau) und einer IL-17 RC-Untereinheit (grün). Die extrazellulär vorkommenden FN1- und FN2-Domänen sind typische Merkmale für alle Rezeptoren der IL-17-Familie und fungieren im Rahmen einer Signalweiterleitung nach erfolgreicher Liganden-Bindung von IL-17A-IL-17A-Homodimeren oder IL-17A-IL-17F-Heterodimeren. SEFIR und CBAD sind intrazellulär-gelegene Domänen, die die aufgenommenen IL-17-Signale verarbeiten und in Form von verschiedenartigen Transkriptionsfaktoren umwandeln, um somit eine gezielte Genexpression einzuleiten.

Ein weiteres strukturelles Charakteristikum aller IL-17-Rezeptoren sind intrazellulär-assoziierte SEFIR-Domänen (47, 57, 96, 164, 250, 262). Sie leisten einen entscheidenden Beitrag in der IL-17-vermittelten Signalweiterleitung (24, 164, 249, 250) und könnten mit einer Rekrutierung von Act1 als notwendiger Zwischenschritt in der Aktivierung weiterer Signalkaskaden angesehen werden (46, 60, 111, 113, 126, 164, 214, 249, 262). Um dieser Funktion gerecht zu werden, verweist die Sekundärstruktur der SEFIR-Domäne auf ein hochspezifisches Bindungsmotiv für das Adapterprotein Act1 (57, 111, 113, 126, 214, 250, 262). Act1 fungiert als Ausgangspunkt weiterer Signalkaskaden, indem es eine Rekrutierung anderer relevanter Adapterproteine zulässt (20, 46, 96, 164, 258, 262). Während die SEFIR-Domäne als bekannt und ausgiebig diskutiert gilt, wird erst seit Kurzem auf eine zweite funktionell bedeutsame C/BAD-Domäne im C-Terminus des IL-17 RA aufmerksam gemacht

(46, 96, 126, 164). Im Gegensatz zur SEFIR-Domäne bewirkt C/BAD keine Aktivierung von MAPK- oder NF- κ B-Kaskaden (46, 96, 199). Es wird angenommen, dass C/BAD neben der Freisetzung von C/EBP β (199) für eine Limitierung der IL-17-Antwort ausschlaggebend ist (46, 164).

3.2. Signaltransduktion und Genexpression des Interleukin-17

Nach Bindung des Liganden am Rezeptor erfolgen diverse Konformationsänderungen, die von der D1- und D2-Domäne aufgenommen und auf die jeweiligen Ketten des Rezeptorkomplexes übertragen werden. Die auf diese Weise weitergeleiteten Informationen erreichen schlussendlich die intrazellulär vorliegenden SEFIR-Domänen und ermöglichen über die Aktivierung dieser Domäne eine Rekrutierung des Act1 (20, 46, 57, 164, 249, 250, 258). Act1 besitzt die Fähigkeit, eine Bindung mit den Adapterproteinen TRAF6 (20, 46, 47, 57, 126, 258, 262) und TRAF5 (20, 57, 96, 205, 258, 262) einzugehen. Interessanterweise scheint das Bindungsvermögen von TRAF5 in direkter Abhängigkeit zur IKKi-Kinase zu stehen, die unmittelbar nach IL-17A-Stimulation aktiviert wird (20, 57, 214). Sie bewirkt eine Phosphorylierung des Act1 am Serin-311 und induziert eine Wechselwirkung mit TRAF5 (20, 57, 214, 262). Somit könnten, vom Act1 abgeleitet, zwei voneinander unabhängige Signalwege unterschieden werden: 1. ein TRAF6-abhängiger und 2. ein IKKi-TRAF5-TRAF2-abhängiger Signalweg (siehe Abb. 4) (20, 57, 96, 262). TRAF6 vermittelt unter der Mitwirkung eines TAK1-TAB2-TAB3-Komplexes (96, 258) eine Aktivierung vom NF- κ B (20, 57, 72, 262), die in einer geregelten Genexpression mündet (126, 205, 258). Zusätzlich zu dieser Funktion könnte TRAF6 an einer Aktivierung von MAPK (57, 96, 199) und C/EBP δ (199) beteiligt sein. Es wird davon ausgegangen, dass diese MAP-Kinasen für eine Stabilisation spezifischer mRNAs verantwortlich sind (46, 126, 199). Demnach übernehmen auch sie eine wichtige regulatorische Funktion in der IL-17-induzierten Genexpression (46, 126, 199).

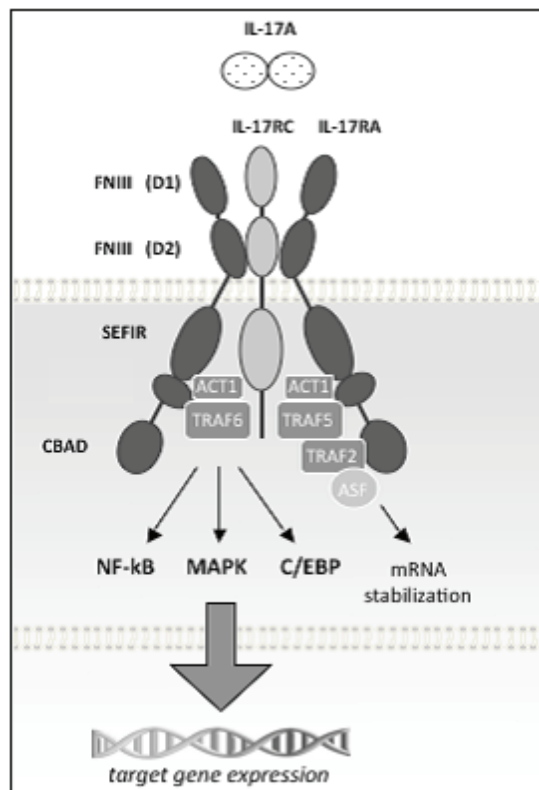


Abb. 4: Dargestellt ist die Signaltransduktion von IL-17 und seiner davon abgeleiteten Signalkaskaden: 1. einer Act1-TRAF6-abhängigen Kaskade und 2. einer Act1-TRAF2-TRAF5-abhängigen Kaskade; modifiziert nach einem Modell von (96).

Nachdem das Liganden-Dimer IL-17A am Rezeptorkomplex gebunden hat, erfolgen diverse Konformationsänderungen, die von der D1- und D2-Domäne aufgenommen und auf die jeweiligen Ketten des Rezeptorkomplexes übertragen werden. Die auf diese Weise weitergeleiteten Informationen erreichen die intrazellulär vorliegenden SEFIR- und C/BAF-Domänen. Durch die Aktivierung der SEFIR-Domäne erfolgt eine Rekrutierung des Act1 zum Rezeptor. Vom Act1 abgeleitet können zwei voneinander unabhängige Signalwege eingeschlagen werden: 1. ein Act1-TRAF6-abhängiger Weg und 2. ein Act1-TRAF2-TRAF5-abhängiger Signalweg. Die Act1-TRAF6-abhängige Signalkaskade mündet in der Aktivierung von NF-κB, MAPK und C/EBP, die im Nucleus für eine Regulation von Zielgenen verantwortlich sind. Der Act1-TRAF5/TRAF2-abhängige Weg fungiert im Rahmen einer mRNA-Stabilisation von Genen. Eine SF2-Bindung markiert den Abbau von mRNAs. Mit der Rekrutierung des SF2 zum Act1/TRAF5/TRAF2-Komplex wird der ursprüngliche Abbau dieser mRNAs verhindert, sodass eine Stabilisierung und Freisetzung von mRNAs die Folge ist.

C/EBP δ ist, wie sein artverwandter Vertreter C/EBP β , ein transkriptioneller Co-Aktivator (72) von IL-17-abhängigen Genen (46, 199). Sie binden ähnliche DNA Sequenzen (199) und ermöglichen die Freisetzung von IL-6 (46, 124, 126, 199), Chemokinen (199), Lipocalin 2 (46), akute-Phase-Proteinen (199) und anderen proinflammatorischen Zytokinen. Im Gegensatz zum C/EBP δ steht C/EBP β unter dem Einfluss post-translationaler Modifikationen, die seine transkriptionelle Aktivität entscheidend regulieren (46, 199).

In diesen Zusammenhang wurde über eine duale Phosphorylierung von C/EBP β unter der Beteiligung von ERK (46, 57, 199, 262) und einer CBAD-vermittelten-GSK3 β berichtet (46, 126, 199). Daraus resultierte eine Inaktivierung von C/EBP β und eine verminderte Genexpression (46, 57, 199, 249, 262).

Der zweite vom Act1 abgeleitete Signalweg basiert auf der Rekrutierung eines sogenannten TRAF5-TRAF2 Komplexes (20, 57, 205, 262). Dieser Komplex könnte durch die Einbindung eines alternativen Spleißfaktors ASF/SF2 in vorherrschende Spleißvorgänge eingreifen und den ursprünglichen Abbau von mRNA-Fragmenten abwenden (47, 57, 96, 205, 262). Das daraus resultierende „alternative Spleißen“ (96) führt zur Stabilisierung von mRNA-Fragmenten und einer Freisetzung von Genen (47, 57, 205, 262). Die vom IL-17 angetriebenen mRNA-Stabilisationen spielen eine redundante Rolle in Verbindung mit anderen proinflammatorischen Zytokinen (60, 249), wie dem TNF- α (258, 262). Es berichten mehrere Quellen über einen synergistischen Effekt mit TNF- α (24, 164, 262), der eine Stabilisation von TNF- α -induzierten Genen nach sich zieht (60, 258), einschließlich des CXCL1 (46, 60, 262). Zu den durch IL-17-induzierten Genen gehören die proinflammatorischen Zytokine Interleukin-6 (IL-6) (12, 14, 24, 46, 87, 94, 164, 214, 249, 258), Interleukin-8 (IL-8) (12, 14, 46, 72, 87, 214), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (12, 94, 183, 262), Interleukin-1 β (IL-1 β) (12, 94, 183, 249, 262), Interleukin-23 (IL-23) (12), der Koloniestimulierende Faktor GM-CSF (94, 12, 14, 24, 214, 262, 183), die chemotaktischen Wirkstoffe CCL20 (24, 72, 249, 258), CXCL1 (57, 72, 214, 249, 258), CXCL10 (14, 94), die Adhäsionsmoleküle CD54 (12, 183), PGE2 (12, 183, 262), NO (262), RANKL (121), die Metallproteasen MMP-1 (24, 33, 262), MMP-3 (24, 33, 262) und diverse Wachstumsfaktoren (72).

Neben diesen Hauptwegen müssen weitere entscheidende Signalwege des IL-17 existieren (96). Mehrere Quellen verwiesen auf das Auftreten von erhöhten Konzentrationen von phosphorylierter PI3K (47, 262), phosphoryliertem ERK (46, 96, 214), phosphorylierter AKT (72), von p38 MAPK (20, 262, 214) und STAT3 (96) nach erfolgreicher Stimulation mit IL-17. Es wird angenommen, dass eine IL-17-abhängige Signalisierung über die Aktivierung eines JAK/STAT-Weges erfolgt (96). Damit übereinstimmend berichtete eine andere Studie über eine PI3K-AKT-GSK3 β abhängige Genexpression und deren Verbindung zu einem JAK/STAT-

Weg (72). Hierbei wird von einer PI3K-AKT-GSK3 β -Signalkaskade ausgegangen, die in Abhängigkeit von JAK1 in einer Phosphorylierung von GSK3 β endet (72). Durch die Phosphorylierung der GSK3 β soll diese Kinase in einen inaktiven Zustand überführt werden und Grund zahlreicher Genexpressionen sein (72). Es wurde nachgewiesen, dass als Folge einer JAK-1-Blockade eine reduzierte IL-17-vermittelte Genexpression und Phosphorylierung von GSK3 β eintrat (72). Es stellt sich die Frage, ob diese Beobachtung im Einklang mit der zuvor demonstrierten C/EBP β -Regulation durch ERK und GSK3 β steht. Demnach könnte der vorgeschlagene JAK-assozierte-PI3K-AKT-Signalweg über die Inaktivierung der GSK3 β einen wichtigen regulatorischen Einfluss auf C/EBP β ausüben (72). Aus der Inaktivierung der GSK3 β könnte eine fehlende duale Phosphorylierung und Modulation des C/EBP β resultieren. Aus den oben erklärten Wegen würde dies unmittelbar zu einer gesteigerten transkriptionellen Aktivität des C/EBP β und einer davon abgeleiteten Genexpression führen.

Zusammenfassend ist IL-17 ein proinflammatorisches Zytokin (14, 57, 94, 258), das mit der Pathogenese verschiedener Autoimmun- und Entzündungserkrankungen in Verbindung gebracht wurde (47, 60, 70, 250, 262), einschließlich der Psoriasis (163), mit entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn) (163), dem systemischen Lupus erythematodes (163) oder der Rheumatischen Arthritis (163).

IL-17A ist als wirksamster Vertreter einer spezifischen IL-17-Familie von 6 Mitgliedern (IL-17A-IL-17) zu benennen und wird in der Literatur zumeist nur als IL-17 bezeichnet. Auch in dieser Arbeit wird IL-17 synonym für IL-17A verwendet. Neben den homodimeren Glykoproteinen des IL-17A, existieren weitere heterogene Gefüge aus Kombinationen anderer IL-17-Familienmitglieder, wie dem IL-17A und IL-17F, die allerdings schlecht erforscht sind.

Auch IL-17 ist für die Wirtsverteidigung gegen viele Mikroben (14, 43, 46, 47, 57, 164, 183, 258), insbesondere gegen die Bakterien *Klebsiella pneumoniae* (Lungenschleimhaut) (163), *Citrobacter rodentium* (Darmschleimhaut) (163), *Porphyromonas gingivalis* (Mundschleimhaut) (163) und verschiedene Pilzen essentiell (163). Die Mechanismen, mit denen IL-17 seine Wirkungen entweder zum Nutzen oder Nachteil des Wirtes ausübt, sind

zum großen Teil auf die Induktion neuer Genexpressionen zurückzuführen (163) (siehe Tabelle 2: IL-17-induzierte Genexpressionen). Während viele der IL-17-abhängigen Zielgene in verschiedenen Krankheitszuständen gemeinsam sind, unterscheiden sich die Effekte von IL-17 in einigen Fällen je nach Zielzelle, infektiöser Stelle oder Pathogen (163).

Der IL-17-Rezeptor wird ubiquitär exprimiert (46, 57, 262) und umfasst einen heterogenen Rezeptorkomplex, der aus einem homogenen IL-17 RA:IL-17 RA-Gefüge und einem IL-17 RC-Anteil besteht (46, 96). Nach einer Bindung des Liganden am Rezeptorkomplex erfolgt eine Aufnahme und Weiterleitung der Informationen zu intrazellulär-gebundenen SEFIR-Domänen, die eine Aktivierung und Rekrutierung weiterer Adapterproteine einleiten (20, 46, 57, 164, 249, 250, 258). Davon abgeleitet können zwei Signalkaskaden des IL-17 unterschieden werden: 1. eine Act1-TRAF2/TRAF5-abhängige Kaskade und 2. eine Act1-TRAF6-abhängige Kaskade (20, 57, 96, 262). Hierbei mündet der Act1-TRAF2/TRAF5-abhängige Signalweg in eine Stabilisierung von mRNA-Fragmenten, die ursprünglich abgebaut werden sollten (47, 57, 96, 205, 262) und der Act1-TRAF6-abhängige-Signalweg in eine Aktivierung von MAPK-Kinasen (57, 96, 199) und eine Aktivierung des NF- κ B (20, 57, 72, 262). Zusätzlich scheint IL-17 über synergistische Effekte mit proinflammatorischen Zytokinen wie dem TNF- α zu verfügen (24, 164, 262), indem es eine Stabilisation von TNF- α -induzierten Genen vermittelt (60, 258).

Tabelle 2: IL-17-induzierte Genexpressionen

Hochregulation von Proteinen/Genen durch IL-17	Funktion	Refs.
Interleukin-6	Förderung der Entzündungsreaktion durch Aktivierung von MAPK- und NF- κ B -Signalwegen und der Expression von entzündungsfördernden Mediatoren	(124)
	Einleitung der Th-17-Differenzierung	(48)
Tumornekrosefaktor- α	Förderung der Entzündungsreaktion durch Aktivierung des NF- κ B und der Expression von entzündungsfördernden Mediatoren	(57)
Interleukin-1 β	Freisetzung von Entzündungsmediatoren durch Aktivierung des NF- κ B	(218)

	Induktion einer lokalen Gewebsentzündung und eines Th-17-typischen Zytokinmilieus	(183)
	Einleitung der Th-17-Differenzierung	(48)
Interleukin-23	Förderung der Th-17-Differenzierung und Stabilisierung von pathogenen Th-17-Zellen	(48)
	Induktion einer lokalen Gewebsentzündung und eines Th-17-typischen Zytokinmilieus	(183)
	Aktivierung der antimykotischen Immunität	(43)
Interleukin-8 (CXCL8)	Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten	(133, 163)
CXC-Chemokinliganden CXCL 1 CXCL2 CXCL5	chemotaktische Aktivität für neutrophile Granulozyten	(48, 163)
CXCL10 CCL20	chemotaktische Aktivität für Lymphozyten, dendritischen Zellen (DC) und andere Immunzellen	(163)
CCL2 CCL7	chemotaktische Aktivität für Monozyten	(163)
CD54	Adhäsionsmolekül-Bindung an Lymphozytenfunktion-assoziiertem Antigen-1 und Mac1	(196)
	T-Zell-Aktivierung und Rekrutierung von Leukozyten zum Entzündungsort	(184)
COX (cyclo-oxygenase) iNOS	Synthese von PGE2 (Prostaglandin E2) und NO in verschiedenen Zelltypen als Mediatoren von entzündlichen Erkrankungen	(262)
RANKL	Förderung der Osteoklastogenese und Knochenzerstörung/Knorpelzerstörung	(163, 262)
Metalproteasen MMP1, MMP-3	Zerstörung der extrazellulären Matrix und Gewebeschädigung bei der RA	(163, 262)
GM-CSF	Förderung der polymorphonuklearen Zellexpansion, der Differenzierung und des Überlebens von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen	(12, 163)

4. Interleukin-17 und Interferon- γ im peripheren und zentralen Nervensystem

4.1. Interleukin-17

Auswirkungen des IL-17 im peripheren und zentralen Nervensystem

Es wird angenommen, dass IL-17 an zahlreichen neuronalen Interaktionen beteiligt ist (137) und als zentraler Regulator von Entzündungsreaktionen im Hirn fungiert (116). Damit übereinstimmend wurde IL-17 mit diversen Erkrankungen des ZNS in Verbindung gebracht: Multiple Sklerose (37, 137, 223); Epilepsie (128); ischämische Hirnverletzungen (110, 137, 223), Fokale kortikale Dysplasie (FCD) (62) und Störungen der Blut-Hirn-Schranke (BBB) (137, 223).

Während sich viele Forscher zunehmend über den pathologischen Stellenwert des IL-17 bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen bewusst werden, ist verhältnismäßig wenig über seine physiologischen Funktionen im ZNS bekannt (116). Jüngste Studien lieferten Einblicke darüber, dass IL-17 ebenso protektive Wirkungen vermittelt und im Rahmen einer Neurogenese wichtige Funktionen erfüllt (110, 223). In diesen Kontext besaß IL-17 eine kritische Rolle in der initialen Phase der Abtötung von Bakterien im ZNS (223) und förderte die post-ischämische Erholungsphase (110). Lin et al. demonstrierten, dass von Astrozyten freigesetztes IL-17 direkt auf neuronale Progenitorzellen in der subventricular zone (SVZ) wirkte und die Schlaganfall-Erholungsphase durch ein verbessertes Überleben dieser Zellen, die Migration von Neuroblasten, eine gesteigerte neuronale Differenzierung und anschließende Synaptogenese förderte (110). Eine andere Studie zur diabetischen Neuropathie zeigte, dass IL-17 in Kulturen von sensorischen DRG-Neuronen von normalen und Streptozotocin (STZ)-induzierten diabetischen Ratten in einer IL-17-abhängigen-ERK- und PI3K-Signalkaskade das Neuritenwachstum verstärkte (58). Diese Erscheinung steht im Einklang mit Untersuchungen an Mikroglia-Zellen, in denen neben der pro-inflammatorischen Wirkung von IL-17 auf eine erhöhte Expression von neurotrophen Faktoren aus Mikroglia-Zellen aufmerksam gemacht wurde, einschließlich des Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), des Glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) und des nerve growth factor (NGF) (88) (siehe Abb. 5). Diese Faktoren könnten an anti-

inflammatorischen Abwehrmechanismen innerhalb des ZNS teilnehmen und zum neuronalen Schutz, der Reparatur und Begrenzung von Hirnschäden beitragen (88).

Zusammengefasst scheint IL-17 sowohl positiv und negativ modulierende Einflüsse auf Neurone auszuüben, die in Abhängigkeit von jeweiligen neuronalen Zelltyp und der spezifischen IL-17-Quelle stark variieren, und von einer Förderung des Überlebens und des Wachstums bis hin zu diversen Schädigungen und Apoptose-Prozessen reichen (137). Unterstützt wird diese Vorstellung durch die Beobachtung, dass von $\gamma\delta$ T-Zellen sezerniertes IL-17A die Hirnschädigungen in der akuten Phase eines Schlaganfalls verschlechtert, während von Astrozyten freigesetztes IL-17A das Überleben und die neuronale Differenzierung von neural stem/progenitor cells (NSCs) und anschließende Synaptogenese über einen p38 MAPK/Calpain1-abhängigen Signalweg in der verzögerten Phase der Wiederherstellung nach einem Schlaganfall begünstigte (110). Der Hauptrezeptor IL-17 RA wird konstitutiv im ZNS exprimiert (37) und ist in vielen neuronalen Geweben aufzufinden, einschließlich dem Soma von Hippocampus-Neuronen der Maus (137), zerebral-granulären Neuronen (137), DRG-Neuronen der Ratte (116, 185, 198), Oligodendrozyten (168), Schwannschen Zellen (203), Mikroglia (37, 62, 88, 223), Astrozyten (37, 88, 223), Satelliten-Zellen (198), neuralen Stammzellen (107) und endothelialen Zellen der BBB (62, 223). Interessanterweise waren die Expressionen von IL-17 und seinen zugehörigen Rezeptoren in ausgewählten neuronalen und nicht-neuronalen Zelltypen in einem nicht-entzündeten Zustand nur schwer bis nicht nachweisbar (62, 88). Hierunter zählten Glia-Zellen, vaskuläre Endothelzellen und unterschiedliche Neurone aller kortikalen Schichten (62).

Im Gegensatz dazu erfuhr die basale Expression des IL-17 RA und IL-17 unter pathologischen Zuständen einen enormen Schub, so dass eine erhöhte Expression des IL-17 RA und IL-17 im Falle von Epilepsie (128), fokaler kortikaler Dysplasie (FCD) (62), als Folge einer Sauerstoff-Glukose-Deprivation (225) und der experimentellen Autoimmunenzephalitis (37) in kortikalen Geweben nachgewiesen wurde. Vergleichbare Steigerungen traten bei fokalen kortikalen Dysplasien (FCD) in endothelialen Zellen, Ballon-Zellen, heterotrophen Neuronen der weißen Substanz, Gliazellen, Astrozyten und in nahezu allen kortikalen Schichten auf (62). In diesem Kontext wurde eine signifikante Hochregulation des IL-17 RA-Rezeptors im ZNS bei Mäusen mit EAE beobachtet (37). Auch bei Schlaganfällen war die IL-17A-Expression im Gehirn gesteigert und korrelierte mit einer

Zunahme der IL-17-Rezeptor-Expression auf Neuronen und anderen Gehirnzellen bereits am ersten Tag nach dem Schlaganfall bei Mensch und Maus (223).

Die Synthese von IL-17 erfolgt durch verschiedene periphere Immunzellen, wie den $\gamma\delta$ T-Zellen (110, 151, 223) und Th-17-Zellen (137, 151, 223), die im Zuge eines Leidens in das ZNS einwandern, als auch von ZNS-ansässigen Zelltypen, wie Mikroglia (siehe Abb. 5) (88, 224) und Astrozyten (110, 224). Somit ist IL-17 sowohl im peripheren als auch zentralen Nervensystem vertreten (137).

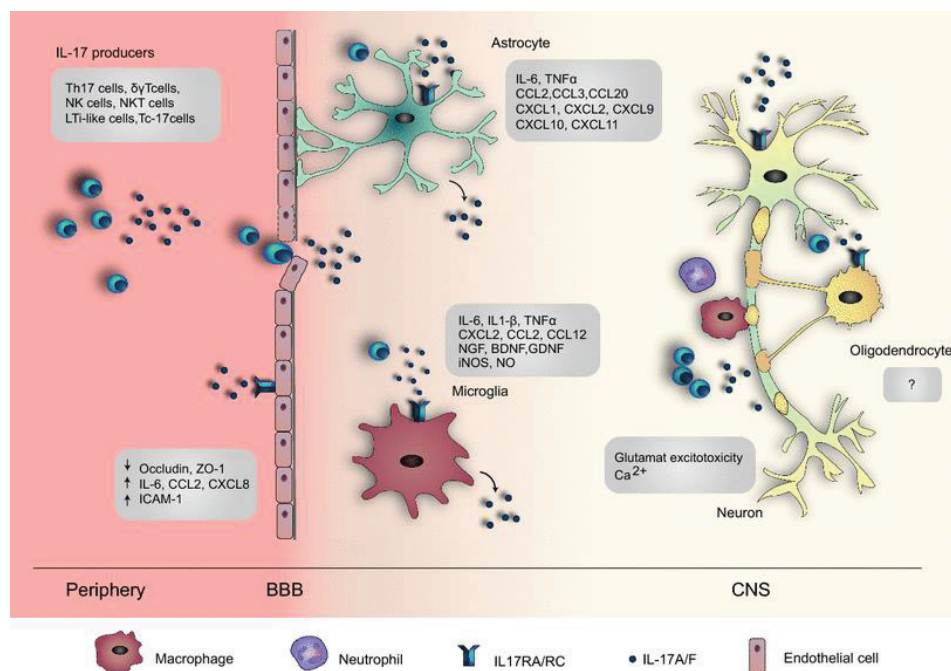


Abb. 5: Überblick einer IL-17-vermittelten Immunreaktion im ZNS, nach einer Abbildung von (223).

Das von infiltrierten Immunzellen freigesetzte IL-17 kann an seinen spezifischen Rezeptor auf den unterschiedlichen ZNS-ansässigen Zelltypen binden und verschiedenartige Reaktionen hervorrufen. Daraus resultierende Effekte können zur Progression von neurodegenerativen Erkrankungen, wie der MS beitragen, indem sie eine Induktion von entzündungsfördernden Mediatoren im ZNS (180), eine Unterbrechung der Tight junctions der BBB (223) oder vermehrte Infiltration neuer Entzündungszellen auslösen (137). Astrozyten reagierten als Antwort auf IL-17 mit einer gesteigerten Expression von pro-inflammatorischen Faktoren, wie IL-6, TNF- α , CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL20 (MIP-3 α), CXCL1 (NAP-3), CXCL2 (MIP-2), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10) und CXCL11 (IP-9) (223). Mikroglia antwortete in vitro mit einer erhöhten Sekretion von IL-6 und MIP-2 (88). Durch seine Wirkung an endothelialen Zellen induzierte IL-17 eine Unterbrechung der BBB über eine negative Modulation von tight junctions und der Expression von Zell-Adhäsionsmolekülen. Die gesteigerte Permeabilität der BBB erlaubt einen unkontrollierten Einstrom weiterer peripherer Immunzellen, einschließlich IL-17-produzierender Zellen, die anschließend eine Entzündungskaskade durch ZNS-ansässige Zellen einleiten und eine fortschreitende Schädigung der BBB hervorrufen können (223).

Nozizeptive Wirkung des IL-17 im peripheren Nervensystem

Neben den Wirkungen im peripheren und zentralen Nervensystem wurden interessante Ansätze einer wichtigen Rolle des IL-17 in den Nozizeptoren des peripheren Nervensystems sichtbar. Es wurde deutlich, dass IL-17 durch direkte Auswirkungen seines IL-17-Rezeptors auf primär-nozizeptiven Neuronen als potentielle algetische Substanz fungiert und einen wichtigen Stellenwert in einer Erzeugung und Aufrechterhaltung von mechanischen Hyperalgesien einnimmt (185). Richter et al demonstrierten, dass die intra-artikuläre Injektion von IL-17A in das Kniegelenk von Ratten eine langanhaltende Sensibilisierung der nozizeptiven Nerven auf mechanische Reize zur Folge hatte. Hervorzuheben gilt, dass diese Sensibilisierung unabhängig von einer Neutralisation von IL-6 oder IL-1 β eintrat (185). Eine einzige Injektion von IL-17A in das normale Kniegelenk verursachte eine dosisabhängige, sich langsam-entwickelnde und mehrere Stunden anhaltende Zunahme der Antworten von nozizeptiven C-Fasern bei nicht-noxischen und noxischen Drehungen (Sensibilisierung). Erstaunlicherweise wurden nozizeptive A δ -Fasern nur bei den höchsten Dosierungen von IL-17A sensibilisiert, was nahelegt, dass IL-17A hauptsächlich auf C-Fasern sensibilisierend wirkt (185). Eine Sensibilisierung der Nozizeptoren ihrer peripheren Nervenenden würde voraussichtlich zu einer Erhöhung des nozizeptiven Eingangs in das ZNS führen (137). Diese Wirkungen könnten durch eine verstärkte Expression von Ionenkanälen, die nozizeptive Funktionen unterstützten, erklärt werden (137). Zusätzlich zeigten Inkubationen von DRG-Neuronen mit IL-17A, dass IL-17 die Expression von TRPV4-Kanälen hochreguliert (198). Obwohl der TRPV4 nicht der einzige TRP-Kanal ist, der an einer mechanischen Hyperalgesie teilnimmt, trat die Hochregulation von TRPV4 durch IL-17A in Verbindung mit einer Induktion einer mechanischen Übererregbarkeit auf (193). Eine andere Studie belegte, dass die direkte Injektion von IL-17A in die Gelenkhöhle von antigen-induzierten arthritischen Mäusen die Hypernozizeption durch eine IL-17A-vermittelte Aktivierung von Immunzellen verstärkte und sowohl die Zytokine TNF- α und IL-1 β als auch andere pro-inflammatorische Vertreter, wie Prostaglandine, CXCR1/2-Liganden und die Matrix-Metallprotease-9 freisetzte (177). Viele von diesen Zytokinen erhöhten die Erregbarkeit von DRG-Neuronen und die Nozizeption, so z.B. das TNF- α (186, 192, 253), IL-1 β (248), und Prostaglandin E2 (146). Zusammengefasst unterstützen diese Daten die Vorstellung, dass IL-17A auf direkten oder indirekten Wege die Nozizeption beeinflusst, was einerseits über

die Stimulation und Rekrutierung von zusätzlichen Immunzellen zum geschädigten entzündeten Gewebe, die die weitere Sekretion von pro-nozizeptiven Entzündungsmediatoren einleiten (137), und andererseits über eine direkte Wirkung primär-nozizeptiver Neurone (Abb. 6) (185) erklärt werden kann.

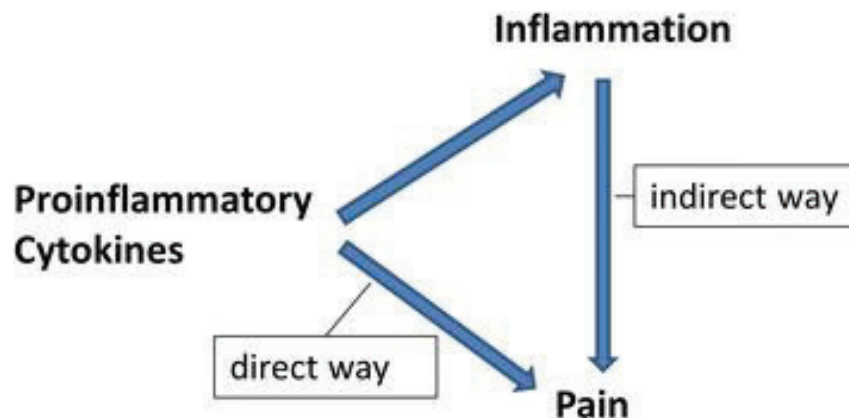


Abb. 6: Schematische Darstellung einer möglichen Wirkungsweise pro-inflammatorischer Zytokine auf die Schmerzwahrnehmung, nach einer Abbildung von (193).

Der indirekte Weg verläuft über die Stimulation und Rekrutierung von zusätzlichen Immunzellen zum geschädigten entzündeten Gewebe, die die weitere Sekretion von pro-nozizeptiven Entzündungsmediatoren einleiten, der direkte Weg über eine direkte Aktivierung primär-nozizeptiver Neurone.

Signalwege des IL-17 im peripheren Nervensystem

Obwohl IL-17 als wichtiger Regulator von Entzündungsreaktionen, Autoimmunerkrankungen und antibakteriellen Reaktionen angesehen wird, sind seine zugehörigen molekularen Mechanismen in den verschiedenen neuronalen Zelltypen seines Wirkungsspektrums nur schlecht erforscht (180). In Ergänzung zu den neuroprotektiven Signalkaskaden des IL-17 in Astrozyten und DRG-Neuronen (siehe Kapitel 4.1.) zeigte eine Kultivierung von Ratten DRG-Neuronen mit IL-17 eine rasche Phosphorylierung der Protein-Kinase B (PKB/AKT) und ERK innerhalb von 5 min (185). Insbesondere die Hochregulation von pERK wurde im Zusammenhang mit einer Übererregbarkeit von DRG-Neuronen beobachtet (185). Eine andere Studie stellte eine vergleichbare signifikante Präsenz von ERK nach einer IL-17-Applikation in kultivierten DRG-Neuronen fest, die zudem von einer Hochregulation und verstärkten Expression des NF- κ B begleitet wurde (185, 193, 198). Somit scheint IL-17 in DRG-Neuronen wie auch in nicht-neuronalen Zellen (siehe Kapitel

3.2.) über typische Signalwege zu verfügen. Leider existiert nur wenig Material über die Signalkaskaden des IL-17 in DRG-Neuronen, sowie deren Beteiligung an der Nozizeption.

Signalwege des IL-17 im zentralen Nervensystem

Im Gegensatz zu den Signalwegen des IL-17 in DRG-Neuronen werden zunehmend Fortschritte auf dem Gebiet der MS und seines zugehörigen Tiermodells der EAE in einer Erkundung IL-17-abhängiger-pathogener Signalkaskaden in neuronalen Zellen des Gehirns gemacht. Verschiedene Studien der EAE identifizierten Act1 als ein tragendes Element in einer Weiterleitung IL-17-abhängiger Signale in Zellen des ZNS, wie Astrozyten (85, 180, 234, 249) und NG2+ Gliazellen (84), bei der Progression pathologischer Prozesse der EAE.

Astrozyten stellen den am häufigsten vorkommenden Zelltyp im ZNS des Säugers dar (ca. 90 % des menschlichen Hirngewebes) (28, 234) und gelten dort als wichtige Quelle des IL-17 (110). Es wurde demonstriert, dass eine Limitierung der Act1-Signalisierung in Neuroektoderm-abgeleiteten Zellen (Astrozyten, Oligodendrozyten und Neuronen) durch aktive Immunisierung oder den adaptiven Transfer von myelin-spezifischen Th-17-Zellen eine deutliche Verminderung der EAE-Erkrankungsschwere nach sich zog (85, 249). Eine Ausschaltung der Act1-Expression in Astrozyten durch Einführung eines neuartigen lentiviralen Vektors shAct1 resultierte ebenfalls in einer verminderten EAE-Schwere, die mit einer stark limitierten Anzahl infiltrierter Entzündungszellen in das ZNS und einer unterdrückten Expression der Chemokine CXCL1, CXCL2 und der Metallprotease MMP3 einherging (234). Basierend auf weiteren in vivo- und in vitro-Experimenten wurde ermittelt, dass vergleichbare Tendenzen auf Act1-defiziente Mäuse zutrafen (85, 180). Insbesondere Astrozyten Act1-defizienter Mäuse zeigten eine verringerte Produktion der IL-17-induzierten Zytokine und Chemokine CXCL1, CXCL2 und CCL20, die mit einer limitierten Rekrutierung entzündlicher Zellen im ZNS dieser Mäuse übereinstimmte (85, 180). Im Einklang mit diesen Beobachtungen ging im Vergleich zu Kontrollmäusen die IL-17-vermittelte NF- κ B-Aktivierung (Phosphorylierung von I κ B) in diesen Astrozyten verloren (85). Demgegenüber konnte eine zelltypspezifische Ablation von Act1 in Endothelzellen, Mikroglia oder Makrophagen keinen Einfluss auf die EAE-Anfälligkeit ausüben (85).

Diese Daten demonstrieren, dass Astrozyten über einen Act1-abhängigen NF- κ B-Signalweg verfügen, der in Reaktion auf IL-17 eine unmittelbare Steigerung der Zytokin- und

Chemokinfreisetzung bewirkt und somit eine Rekrutierung neuer entzündungsfördernder Immunzellen zum Entzündungsort begünstigt. Diese Vorstellung wird durch eine spezifische Deletion von A20, einen Inhibitor des NF- κ B, in Astrozyten bekräftigt. Nach A20-Deletion trat eine verstärkte NF- κ B-Aktivierung und EAE-Schwere auf (227). Zusätzlich zu einem intakten NF- κ B-Signalweg wurde eine IL-17-assoziierte Aktivierung der p38 MAPK- und JNK MAPK-Kinase nachgewiesen, die in Verbindung mit einer erhöhten Expression von IL-6 aus Astrozyten auftrat (124). In ähnlicher Weise wurde eine Aktivierung der MAPK-Kinasen (p38, JNK, ERK) und eines PI3K/AKT-Signalweges nach einer Behandlung mit IL-17 in primären Astrozyten festgestellt (245). Unter der Nutzung von spezifischen Inhibitoren der verschiedenartigen Signaltransduktionsproteine zeigte sich, dass im Besonderen die Kinasen ERK, JNK und der ausgelöste PI3K/AKT-Signalweg an einer IL-17-vermittelten Induktion von MIP-1 α aus primären Maus-Astrozyten Beteiligung finden (245). Das Makrophagen-Entzündungsprotein-1 α (MIP-1 α) wurde mit einer Anzahl von pathologischen Zuständen in Verbindung gebracht, die im Spezifischen auf seine potente chemotaktische Wirkung zurückzuführen sind (245). Interessanterweise konnte auch in einer Studie zur fokalen kortikalen Dysplasie eine schwache Aktivierung des NF- κ B-p65 in Neuronen, Glia-Zellen und Endothelzellen festgestellt werden (62). Gemessen an den zuvor erwähnten neurogenerativen ERK/PI3K- und p38 MAPK-Calpain1-Signalwegen in Astrozyten und DRG-Neuronen, könnten diese Zelltypen tatsächlich über vergleichbare Signalwege des IL-17 wie nicht-neuronale Zellen verfügen.

Zusammenfassend ist IL-17A ein wichtiger Mediator im peripheren (185) und zentralen Nervensystem (116), der sowohl positiv als auch negativ modulierende Eigenschaften auf Neurone hat (137). Seine Wirkungen reichen von Förderung des Überlebens und des Wachstums bis hin zu diversen Schädigungen und Apoptose-Prozessen (137). Hierbei scheinen die protektiven oder schädlichen Wirkungen des IL-17 stark von der spezifischen IL-17-Quelle und dem neuronalen Zelltyp abzuhängen (137). Die Expression des IL-17-Rezeptors findet konstitutiv auf verschiedenen neuronalen Zellgeweben statt (37, 62, 88, 116, 137, 168, 185, 198, 203, 223) und erfährt eine starke Erhöhung unter entzündlichen und pathologischen Bedingungen (37, 62, 128, 225).

Es wurde weiterhin deutlich, dass IL-17 einen wichtigen Einfluss auf die Nozizeption ausübt (185), indem es direkte und indirekte Auswirkungen auf primär-nozizeptive Neurone besitzt (193). Intra-artikuläre Injektionen von IL-17A in die Kniegelenke von Ratten hatten langanhaltende Sensibilisierungen der nozizeptiven Nerven auf mechanische Reize zur Folge (185). Hierbei zeigten vor allem nozizeptive C-Fasern eine dosisabhängige, sich langsam entwickelnde und anhaltende Zunahme der Antworten bei nicht-noxischen und noxischen Drehungen nach einer Injektion von IL-17A in das normale Kniegelenk (185). Um eine Sensibilisierung von A δ -Fasern auszulösen, wurden höchste Konzentrationen von IL-17 benötigt. Somit scheint IL-17 bevorzugt eine Sensibilisierung von C-Fasern zu vermitteln (185). Die indirekten Auswirkungen von IL-17 auf primär-nozizeptive Neurone betreffen vor allem die Rekrutierung von zusätzlichen Immunzellen zum geschädigten entzündeten Gewebe, die die Sekretion von weiteren pro-nozizeptiven Entzündungsmediatoren einleiten (137).

Beim Ergründen der molekularen Mechanismen von IL-17-abhängigen Signalwegen in peripheren und zentralen Nervenzellen wurden bisher nur spärliche Fortschritte gemacht. Verschiedene Studien demonstrierten anhand spezifischer Versuchsmodelle von DRG-Neuronen, dass auch in diesen Zelltypen typische Signalkaskaden des IL-17 existieren. Es wurde nachgewiesen, dass periphere DRG-Neurone über charakteristische Aktivierungen der IL-17-Signalwege, wie die der Protein-Kinase B (PKB/AKT) (185), ERK (58, 185), PI3K (58) oder die des NF- κ B (185, 193, 198) verfügten.

Im ZNS wurde das Adapterprotein Act1 als tragendes Element in einer Weiterleitung IL-17-abhängiger Signale in neuronalen Zellen, Astrozyten (85, 180, 234, 249) und NG2+ Gliazellen (84) identifiziert. Spezifische Deletionen des Act1 oder A20 in verschiedenartigen neuronalen Zellkulturen verdeutlichten, dass Astrozyten über einen Act1-abhängigen NF- κ B-Signalweg verfügen (85, 227). Zusätzlich konnten IL-17-assoziierte Aktivierungen der MAPK-Kinasen (p38, JNK, ERK) (124, 245) und die eines PI3K/AKT-Signalweges nach einer Behandlung mit IL-17 in primären Astrozyten festgestellt werden (245). Somit könnten diese peripheren und zentralen neuronalen Zelltypen tatsächlich über vergleichbare Signalwege des IL-17 wie nicht-neuronale Zellen verfügen.

4.2. Interferon- γ

Auswirkungen des IFN- γ im zentralen Nervensystem

Wie IL-17 wirkt IFN- γ als wichtiger Akteur des zentralen Nervensystems und ist an zahlreichen neuronalen Interaktionen beteiligt, sodass es in Zusammenhang mit der Experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE) (109), Multiplen Sklerose (MS) (109, 217), Gliaschäden (44), Oligodendrozytentod (65, 109), antiviralen Schutzfunktionen (28, 44), zentralen Sensibilisierungsprozessen (217) und einer Regulation der Leukozytenbewegung im zentralen Nervensystem gebracht wurde (98). Im Gehirn spielt IFN- γ eine integrale Rolle in der Beseitigung von neurotrophen Viren, wie dem vesikulären Stomatitis-Virus (VSV), dem Masern-Virus (MV), dem Maus-spezifischen Enzephalomyelitis Virus, dem Sindbis-Virus und dem West-Nil-Virus (178). Zusätzlich ist es entscheidend an der Eliminierung bestimmter intrazellulärer bakterieller Infektionen im Gehirn beteiligt (178). Die Wirkungsmechanismen des IFN- γ sind auf die Infektion zugeschnitten und reichen von Induktionen des Mx-Proteins in Myxovirus (Influenza)-Infektionen, PKR-Expressionen in Infektionen des Hepatitis-C-Virus bis hin zu induzierten-NOS in VSV- und Coxsackie-Virus-Infektionen (28).

In Ergänzung zu seinen proinflammatorischen Funktionen existieren Hinweise darauf, dass IFN- γ an der Differenzierung und dem Überleben von neuronalen Zellen mitwirkt (150, 173, 201). Es wurde gezeigt, dass im Zuge einer antiviralen Immunantwort die Freisetzung von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen das Überleben und die Neurogenese von neuronalen Stammzellen/Progenitorzellen (NSPCs) beeinflussten (44). Es existieren kontroverse Ansichten darüber, ob IFN- γ vorwiegend pro-neurogene oder anti-neurogene Einflüsse (44) vermittelt, bzw. pro-inflammatorische oder anti-inflammatorische Auswirkungen im ZNS besitzt (65, 185). So induzierte IFN- γ die Apoptose in neuronalen Zellen, wie menschlichen Oligodendrozyten-Vorläuferzellen, während es primäre Neurone vor anderen neurotoxischen Einflüssen beschützte (44). Vergleichbare Tendenzen wurden im Falle der EAE beobachtet. Der adoptive Transfer von IFN- γ -sezernierenden Th-1-Zellen bewirkte eine Induktion der EAE (85, 104, 249). Demgegenüber fungierte von Astrozyten freigesetztes IFN- γ neuroprotektiv. Dies ging mit verringerten Demyelinisierungsgraden,

axonalen Degenerationen und Astrozyten-Aktivierungen einher (65). Es wurde deutlich, dass IFN- γ auf vielfältige Weise Schutz vor EAE verleiht und hierbei als negativer Regulator der Neutrophilen-Akkumulation, der Th-17-Zell-Aktivierung, der IL-1R-Signalwege, einer Protease-Sekretion und der Chemokin-Aktivität dient (65).

IFN- γ wurde weiterhin als wichtiges regulatorisches Zytokin der Leukozyten-Migration durch den Plexus Choroideus in das ZNS unter physiologischen und entzündlichen Bedingungen identifiziert, indem es allein oder in Synergie mit TNF- α eine erhöhte Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 ermöglichte (98). Die Synthese des IFN- γ kann durch infiltrierte aktivierte NK-Zellen und T-Zellen im Verlauf einer akuten Infektion oder entzündlichen Erkrankung des Nervensystems erfolgen (28, 217).

IFN- γ ist bekannt dafür, über einen spezifischen Rezeptorkomplex zu signalisieren, der ubiquitär auf allen kernhaltigen Zellen exprimiert wird (51, 65, 217) und zwei verschiedene Untereinheiten umfasst: IFN- γ R1 und IFN- γ R2 (51). Es wird davon ausgegangen, dass die Expression des IFN- γ R1 auf moderaten Niveaus auf der Oberfläche nahezu allen Zellen stattfindet (7, 44). Im Gegensatz dazu wird der IFN- γ R2 konstitutiv in extrem niedrigen Konzentrationen exprimiert, so dass seine Expression in ausgewählten Zelltypen durch äußere Stimuli reguliert werden muss (7, 44). So wurde eine erhöhte Expression des IFN- γ R2 als Folge einer Infektion in pyriformen Kortex auf Astrozyten, den Wänden erweiterter Gefäße, in der Großhirnrinde, im Hippocampus und im basalen Vorderhirn lokalisiert (44). Es können Zytokin-induzierte Signalkaskaden des TNF- α und IL-1 β für eine Hochregulation des IFN- γ -Rezeptors auf epithelialen Zellen des Plexus choroideus ausschlaggebend sein (98). Andere Studien zeigten zusätzlich ein konstitutives Expressionsmuster des IFN- γ -Rezeptors im Bulbus olfactorius, im limbischen System, im Hypothalamus und im Hirnstamm der Ratte (28), sowie auf isolierten DRG-Neuronen des peripheren Nervensystems der Ratte (mündlich mitgeteilt von Gisela Segond von Banchet).

Nozizeptive und immunologische Bedeutung des IFN- γ im peripheren Nervensystem

Ähnlich wie beim IL-17 beschränken sich die Funktionen des IFN- γ nicht nur auf das zentrale Nervensystem, so dass IFN- γ ebenfalls mit antiviralen Reaktionen der Peripherie (28) und Nozizeption in Verbindung gebracht wurde (187). Richter et al untersuchten die Rolle des IFN- γ im akut entzündeten und normalen Kniegelenk der Ratte und seine Beteiligung an einer mechanischen Hyperalgesie und Weiterleitung nozizeptiver Informationen (187). Im normalen Knie bewirkte eine einzelne intraartikuläre Injektion des IFN- γ einen dosis-abhängigen Abfall der Netto-Antwortenrate von C-Fasern auf noxische mechanische Stimulationen (innerhalb von 3 h), hatte jedoch keinen Einfluss auf die Netto-Antwortenrate bei nicht-noxischen Reizen (187). Demgegenüber wurde die Antwortrate in A δ -Fasern nur unwesentlich durch IFN- γ verändert (187). Nach 7h einer akuten Entzündung des Knies trat nach intraartikulärer Injektion von IFN- γ bei C-Fasern eine dosis-abhängige Verringerung der Antwortraten ein (187). Interessanterweise belegten Messungen von A δ -Fasern des akut entzündeten Kniegelenks, dass sowohl 1 ng und 10 ng von IFN- γ eher eine Zunahme der Netto-Antworten-Rate verursachte (187). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass IFN- γ in langsam leitenden Nervenfasern im normalen oder entzündeten Knie als antinozizeptives Zytokin fungiert, während seine Wirkung auf schnell-leitende Fasern von der Stimulation und dem Entzündungszustand des Knies abhängt (187).

Aus immunologischer Sicht wurde deutlich, dass kultivierte DRG-Neurone der Maus im Zuge einer IFN- γ -Stimulation eine verstärkte Sekretion des p40 Homodimers von IL-12 aufwiesen und somit an einer Hemmung der IL-12-induzierten STAT4-Phosphorylierung in T-Zellen Beteiligung fanden (64). Darauf basierend wurde vorgeschlagen, dass von sensorischen Nerven abgeleitetes p40 an einer Unterdrückung einer übermäßigen peripheren Entzündung teilhaben könnte (64).

Signalwege des IFN- γ im zentralen Nervensystem

Es fehlt nach wie vor eine detaillierte und vollständige Ansicht aller ausgelösten-Signalkaskaden des IFN- γ in neuronalen Zellen. Eine Studie, die sich mit der Darstellung quantitativer Reaktionen von primären Neuronen des Hippocampus und primären

Fibroblasten (MEFs) auf IFN- γ auseinandersetzte, entdeckte, dass IFN- γ wie in nicht-neuronalen Zellen eine Aktivierung eines JAK/STAT-Weges einleitete und eine Freisetzung von STAT1 hervorrief (178). Abgesehen von dieser Gemeinsamkeit scheinen Unterschiede in den Reaktionen von IFN- γ in neuronalen und nicht-neuronalen Zellen zu bestehen (157, 178). Podolsky et al. untersuchten die Phosphorylierung der Rezeptor-assoziierten Janus-Kinasen JAK1 und JAK2, da diese Kinasen für eine effiziente Einleitung der Signalübertragungswege auf IFN- γ -Bindung von Nöten sind. Trotz reduzierter basaler Expressionsmuster von JAK1 und JAK2 und einer verzögerten Phosphorylierung von JAK1 zeigten Neurone einen verlängerten Aktivierungs- und Phosphorylierungszustand dieser beiden JAKs über einen Zeitraum von 48 h (178). Des Weiteren zeigten Neurone ein schnelleres und bis 3-fach höheres Aktivierungsniveau von JAK2 im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen (178). Damit übereinstimmend war die STAT1-Phosphorylierung in IFN- γ -behandelten Neuronen verzögert und in der Intensität niedriger im Vergleich zu den Fibroblasten (157, 178). Die Signaltransduktion und die IFN- γ -angetriebene Genexpression dauerte in primären ZNS-Neuronen deutlich länger als in Fibroblasten an (157, 178). Besonders nach einer Applikation von IFN- γ war phosphoryliertes STAT1 für über 48 h in Neuronen nachweisbar, während ein Nachweis in MEFs nach 24 h der IFN- γ -Behandlung versagte (178).

Zusammengenommen zeigen diese Ergebnisse, dass in primären Neuronenkulturen des Hippocampus eine IFN- γ -Stimulation zu einer verlängerten Aktivität des IFN- γ -Rezeptors auf der Membran und zu einer Verzögerung der STAT1-Dephosphorylierung im Zellkern führt, von denen höchstwahrscheinlich beide zu einer verlängerten Kinetik der STAT1-Phosphorylierung in IFN- γ behandelten Neuronen beitragen (178). Diese Vorstellung wird durch eine aktuelle Studie bekräftigt, die ebenfalls eine Gegenüberstellung von primären Neuronen, MEFs und Astrozyten durchführte und eine verzögerte, aber lang anhaltende STAT1-Aktivierung in Neuronen beobachtete (157).

Signalwege des IFN- γ im peripheren Nervensystem

In Übereinstimmung mit dem begrenzten Informationsstand über die Signalwege des IFN- γ in primären Neuronen sind nur wenig Kenntnisse über DRG-Neurone vorhanden. Eine

Studie an SINV-infizierten DRG-Neuronen der Ratte demonstrierte, dass eine Behandlung von IFN- γ eine limitierte Virusreplikation und Aktivierung von STAT1 und STAT5 innerhalb von 30 min nach Applikation zur Folge hatte (22). Dieser Effekt konnte durch die Zugabe eines JAK-1-Inhibitors umgekehrt werden (22). Zusätzlich zu dieser Beobachtung wurde berichtet, dass DRG-Neurone der Ratte infolge einer Verletzung oder LPS-Stimulation zahlreiche Gene aktivieren, die genauen Signalwege sind allerdings nicht bekannt (23). Zusammengenommen weist unser Wissen über DRG-Neurone und deren IFN- γ -abhängige Signalkaskaden noch zahlreiche Lücken auf, die vor allem aus nozizeptiver und immunologischer Sicht von großer Bedeutung sein könnten. Untersuchungen im Institut für Physiologie I belegten an isolierten DRG-Neuronen eine zumindest transiente Aktivierung von STAT1 durch IFN- γ (siehe Abb. 7).



Abb. 7: Western-Blot der Aktivierung von STAT1 nach Zugabe von IFN- γ in Kulturen von DRG-Neuronen der Ratte nach einer Versuchsreihe von Anne Hartung aus dem Institut für Physiologie I Jena (pers. Mitteilung durch Chr. König).

Kulturen von DRG-Neuronen der Ratte wurden zu verschiedenen Zeitpunkten mit 100 ng/ml IFN- γ und einem Antikörper für das phosphorylierte STAT1 (anti-P-STAT1) versehen. Alle Kulturen wiesen eine Phosphorylierung von STAT1 auf, wobei eine erhöhte Phosphorylierung von STAT1 nach 15, 30 und 60 min der Applikation von IFN- γ einsetzte.

Mit Hilfe eines STAT1-Antikörpers (anti-STAT1) wurde eine Protein-Ladekontrolle durchgeführt. Diese zeigte, dass alle Kulturen von DRG-Neuronen eine Grundaktivität von STAT1 besaßen.

STAT1-unabhängige Signalwege des IFN- γ in neuronalen Zellen

Während sich viele der zellulären Wirkungen des IFN- γ aus einer Aktivierung des Signalwandlers und Aktivators der Transkription 1 (STAT1) und davon abgeleiteter Genexpressionen ergaben, berichteten jüngere Studien über STAT1-unabhängige Wege, die die verschiedenen Facetten der IFN- γ -Biologie begründen könnten (54, 109, 181). Eine Studie beschäftigte sich mit der Rolle vom STAT1-abhängigen und STAT1-unabhängigen Wegen in der IFN- γ -induzierten Hypomyelinisierung (109). Die Forscher stellten fest, dass sowohl STAT1-abhängige als auch STAT1-unabhängige Wege für die schädlichen Wirkungen des IFN- γ auf die Myelinisierungsprozesse des ZNS von Bedeutung sind (109). Obwohl die Induktion von IFN- γ -angetriebenen Genen in Reaktion auf IFN- γ im ZNS von STAT1-Null-Mäusen aufgehoben wurde und eine Verringerung des Oligodendrozyten-Verlustes, der Reduktion myelinisierter Axone und der Entzündungsreaktionen im ZNS dieser Mäuse zu beobachten war, blieb die durch IFN- γ induzierte Reduktion der Myelinscheiden-Dicke unverändert (109). Demnach könnte der STAT1-abhängige Signalweg für einen IFN- γ -induzierten Oligodendrozyten-Verlust, eine Reduktion von myelinisierten Axonen und die Einleitung einer Entzündungsreaktion im ZNS verantwortlich sein, während STAT1-unabhängige Wege bevorzugt an einer Limitierung der Myelinscheiden-Dicke mitwirken (109).

Obgleich wenig über andere Proteine als JAK und STAT bekannt ist, die im Zuge einer IFN- γ -Stimulation zum IFN- γ -R rekrutiert werden, existieren starke Hinweise auf mögliche Signalkaskaden, die vollkommen parallel zum herkömmlichen JAK/STAT1-Weg agieren (54). Dabei beschränkt sich das Wissen auf nicht-neuronale Zellen, nur wenig ist über die Signalwege in Neuronen bekannt. Nach einer Stimulation mit IFN- γ reagierten verschiedenartige Zelltypen mit einer Rekrutierung von unterschiedlichen Proteinen zum IFN- γ -Rezeptor, einschließlich Src, PI3K, c-Cbl und MyD88 (54). Eine Rekrutierung der Proteine Src, PI3K, c-Cbl und MyD88 führte zur Initiierung weiterer Signalkaskaden, in denen Proteine wie MAPK-Kinasen, AKT, CaMKII und I κ B-Kinasen involviert waren (Abb. 8) (54). Es wird davon ausgegangen, dass von diesen nachgeschalteten Faktoren, MAP-Kinasen, IKK/NF- κ B und AKT eine Gruppe Signaltransduktions-Proteine bilden könnten, die einen STAT-1 unabhängigen IFN- γ -Weg nutzen (54). Ergänzend dazu berichtete eine andere

Quelle über eine Interaktion der phosphorylierten JAK2-Kinase und Src-Familien-Kinase Fyn in Gegenwart von IFN- γ , die eine unmittelbare Veränderung des Aktivierungszustandes der Kinase Fyn auslöste (181). Von Fyn ist ebenfalls nicht bekannt, ob sie einen unabhängigen Signalweg zu dem des STAT1 darstellt (181). Tatsächlich gelang es einer neueren Studie, einen Nachweis einer solchen STAT1-unabhängigen ERK $\frac{1}{2}$ -Signalkaskade in IFN- γ -behandelten Neuronen des Hippocampus zu erbringen (157). Dort fand man nicht nur eine rasche Aktivierung von STAT1 in Astrozyten und MEFs, sondern auch eine schnelle Aktivierung von ERK $\frac{1}{2}$ nach 5 min der Exposition mit IFN- γ in Neuronen, die selbst nach 24 h der Behandlung noch über dem Basiswert erhalten blieb (157).

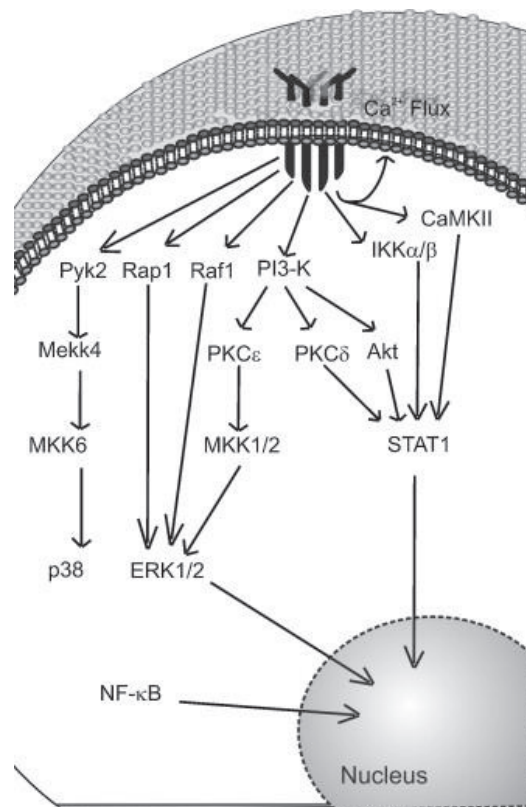


Abb. 8: Schematische Darstellung möglicher IFN- γ -abhängiger und -unabhängiger Signalwege, nach einer Abbildung von (54). Gezeigt wird eine Modellzelle, die weder für Neurone noch für nicht-neuronale Zellen spezifisch sein soll.

Nach der Bindung des IFN- γ am Rezeptor können eine Vielzahl von Signaltransduktionsproteinen durch den Rezeptor rekrutiert werden, die zahlreiche Signalkaskaden auslösen. Diese Kaskaden münden in drei Downstream-Signale, dem NF- κ B, STAT1 und ERK $\frac{1}{2}$. Im Nucleus bewirken diese Faktoren eine gezielte Freisetzung von Genen. Von diesen Wegen könnten ERK $\frac{1}{2}$ und NF- κ B parallel zum STAT1 agieren.

Erstaunlicherweise bestehen deutliche Unterschiede in den Signalwegen bei neuronalen und nicht-neuronalen Zellen. So war eine Aktivierung von ERK½ in Fibroblasten und Astrozyten deutlich geringer als in Neuronen (157). Es zeigte sich, dass IFN-γ eine Neuroprotektion gegen apoptotische Insulte über einen ERK½-abhängigen Mechanismus verlieh, im Gegensatz zu Astrozyten und Fibroblasten, in denen IFN-γ eine zytostatische Wirkung induzierte (157). Darüber hinaus führte das Fehlen von STAT1 in primären Fibroblasten zu einer verstärkten Aktivierung von ERK½ als Folge einer IFN-γ-Zugabe (siehe Abb. 9), was darauf hindeutet, dass die zellspezifische Verfügbarkeit von Signalgebern einen Einfluss auf die zelluläre Reaktion des IFN-γ vermittelt (157).

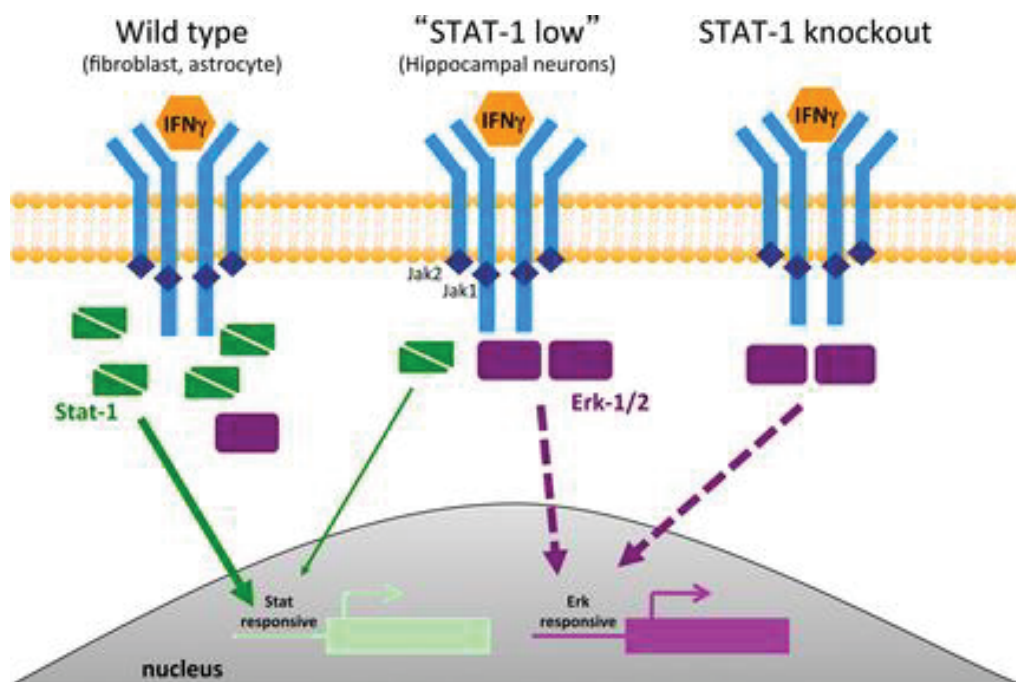


Abb. 9: Übersicht verschiedener IFN-γ Signalwege in Astrozyten, Fibroblasten (MEFs) und Neuronen, nach einer Darstellung von (157).

Astrozyten und Fibroblasten reagierten auf exogenes IFN-γ mit einer umfangreichen und starken STAT1-Induktion im Vergleich zu Neuronen. Demgegenüber aktivierte IFN-γ in Neuronen bevorzugt die extrazellulär-regulierte Kinase-½ (ERK½) im Zusammenhang mit einer niedrigen Expression des klassischen IFN-γ-Signalmoleküls STAT1. Im Falle eines STAT-1-knockouts wurde in Fibroblasten vermehrt über ERK½ signalisiert, was darauf hindeutet, dass die zellspezifische Verfügbarkeit von Signalgebern einen Einfluss auf die zelluläre Reaktion des IFN-γ ausübt.

Unter der Nutzung von spezifischen Inhibitoren wurde sichtbar, dass andere Kinasen, wie AKT, PI3K und p38 MAPK keine signifikante Aktivität in Neuronen besaßen (157). Dennoch wurde darauf aufmerksam gemacht, dass höchstwahrscheinlich weitere alternative Signaturmoleküle parallel zum ERK½ nach einer IFN-γ Exposition induziert werden (157).

Ein weiterer alternativer Signalweg könnte in einer Induktion anderer Mitglieder der STAT-Familie verborgen liegen. Wang et al demonstrierten, dass in der Gegenwart von IFN-γ im ZNS nicht nur eine Erhöhung der STAT1-Phosphorylierung eintrat, sondern ebenfalls eine Phosphorylierung von STAT3 und STAT5 stattfand (226). Es stellte sich heraus, dass in Abwesenheit von STAT1 IFN-γ-abhängige Signalkaskaden zum Teil über andere STATs kompensiert wurden, so z.B. über STAT3 (54). Abweichend dazu zeigten primäre Neurone des Hippocampus, die geringe Mengen von STAT1 exprimierten und über eine begrenzte STAT1-Aktivierung verfügten, unmittelbar nach einer IFN-γ-Stimulation keinen Kompensationsmechanismus einer vermehrten STAT3-Aktivierung als Ersatz für die verringerten Niveaus von STAT1 (190). Zukünftige Forschungen werden zeigen, welche dieser zahlreichen Signalwege in vivo tatsächlich zutreffen und ob diese Wege einen Anteil zur IFN-γ-abhängigen Signalgebung in neuronalen Zellen leisten.

Zusammenfassend wirkt IFN-γ als wichtiger Akteur im zentralen und peripheren Nervensystem in einer Vermittlung neuronaler Einflüsse, so dass es in Zusammenhang mit EAE (109), MS (109, 217), Gliaschäden (44), Oligodendrozytentod (65, 109), antiviralen Schutzfunktionen (28, 44), zentralen Sensibilisierungsprozessen (217) und einer Regulation der Leukozytenbewegung im zentralen Nervensystem gebracht wurde (98). Im Gehirn spielt IFN-γ eine integrale Rolle in der Beseitigung von neurotrophen Viren und der Eliminierung bestimmter intrazellulärer bakterieller Infektionen (178). Die Wirkungen des IFN-γ sind vielseitig und umfassen sowohl pro-neurogene und anti-neurogene Effekte (44, 65, 85, 104, 249). Ähnlich wie beim IL-17 scheint die spezifische IFN-γ-Quelle und der jeweilige neuronale Zelltyp für die protektive oder pathogene Wirkung des IFN-γ ausschlaggebend zu sein (65, 85, 104, 249).

Die Expression der α-Kette (IFN-γR1) scheint auf moderaten Niveaus auf der Oberfläche nahezu aller Zellen stattzufinden (7, 44). Demgegenüber werden für eine moderate

Expression der β -Kette (IFN- γ R2) äußere Stimuli benötigt, wie pathogene Erreger oder andere proinflammatorische Zytokine (7, 44).

Auch in der Peripherie übt IFN- γ wichtige Funktionen innerhalb der Nozizeption (187) und der antiviralen Reaktion (28) aus. Es wurde deutlich, dass IFN- γ in C-Fasern als antinozizeptives Zytokin im normalen oder entzündeten Knie fungiert und einen Abfall der Netto-Antworten von Aktionspotentialen bewirkte. Demgegenüber besaß IFN- γ keinen signifikanten Einfluss auf die Antwortrate von A δ -Fasern (187).

Die nachgeschalteten molekularen Mechanismen des IFN- γ in neuronalen Zellen sind bisher noch kaum erforscht. Anhand verschiedener Studien wurde ersichtlich, dass primäre Neurone des Hippocampus, Astrozyten und MEFs als Gemeinsamkeit eine Aktivierung eines JAK/STAT-Weges aufwiesen und die Aktivierung des Transkriptionsfaktors STAT1 auslösten (157, 178). Allerdings war die Präsenz des STAT1 und davon-abgeleiteter Genexpressionen in neuronalen Zellen bei weitem länger als in nicht-neuronalen MEFs (178).

Auch in peripheren DRG-Neuronen wurden markante STAT1-Signalwege nach IFN- γ -Stimulation beobachtet (22).

Parallel zum herkömmlichen JAK/STAT1-Weg scheinen alternative STAT1-unabhängige Signalwege des IFN- γ zu existieren (54, 109, 181), von denen nachgeschaltete Faktoren, wie MAP-Kinasen (54) (ERK $\frac{1}{2}$) (157), IKK/NF- κ B (54), andere STAT-Faktoren und AKT eine Gruppe von Signaltransduktions-Proteinen bilden könnten, die einen STAT1-unabhängigen IFN- γ -Weg begründen könnten (54).

5. Funktion und Bedeutung von Th-17-Zellen

Die Bezeichnung Th-17-Zellen beschreibt die Zellart T-Helfer-Zellen, die nach ursprünglicher Auffassung das Zytokin IL-17 produzieren (14). Th-17-Zellen erfüllen eine wichtige Rolle im Rahmen der Wirtsabwehr zum Schutz gegen extrazelluläre Erreger (10, 66, 73, 77, 87, 229) und Pilzinfektionen (12, 18, 43, 73). In vielen Autoimmunerkrankungen wurde eine erhöhte Zahl und Hyperaktivierung dieser Th-17-Zellen beobachtet (66, 73, 74, 77, 169, 229), so bei der Rheumatoiden Arthritis (RA) (6, 12, 34, 87, 133, 169, 219, 235), bei der Multiplen Sklerose (MS) (6, 12, 34, 79, 169, 219, 235), bei entzündlichen Darmerkrankungen (6, 12, 34, 169, 219, 235), oder der Psoriasis (6, 12, 169, 219, 235), daher wird ihnen auch in diesen Zusammenhang ein großer pathologischer Stellenwert eingeräumt (94, 235). Die Differenzierung dieser und anderer T-Helfer-Zelluntergruppen erfolgen aufgrund von spezifischen Stimuli, die auf TCR-Signalkaskaden (12, 26, 43, 66, 74, 94, 120, 158), ko-stimulatorische Substanzen (12, 14, 73, 94, 120), Zytokinsignale (14, 18, 43, 73, 74, 77, 94, 120, 237) und diverse Erregerarten (43, 66, 77, 94) zurückzuführen sind. Die anschließende Aktivierung von spezifischen Transkriptionsfaktoren (94) und STATs (237) bestimmt das Schicksal der Zelle (14) und erlaubt die Ausbildung eines einzigartigen Zytokinprofils (74, 94, 183), das unter dem Aspekt einer Hyperaktivierung die Progression von Entzündungen begründen könnte. In Übereinstimmung damit bilden Th-17-Zellen eine Population von CD4⁺T-Zellen (47, 73, 183), die sich durch die Expression von IL-17 (10, 18, 26, 77, 229) und ROR- γ t (12, 26, 34, 73, 74, 169) auszeichnen. Obwohl sie als Hauptquelle des pathogenen IL-17 gelten (135, 183), sezernieren sie eine Fülle anderer proinflammatorischer Faktoren, wie IL-6 (6, 10, 79, 121), IL-17F (6, 10, 12, 26, 43, 47, 77, 79), IL-21 (6, 10, 12, 18, 26, 77, 79), IL-22 (18, 26, 43, 47, 77, 79), GM-CSF (12, 34, 47, 121, 183, 235), TNF α (6, 10, 12, 26, 34, 79, 121), und spezifisch beim Menschen IL-26 (6, 12, 34, 47, 79, 121) und CCR6 (12, 77, 79, 94). Dieses Zytokinprofil kann in Abhängigkeit von entzündlichen Differenzierungsmilieu variieren (12). Darüber hinaus wurden in neuerer Zeit auch alternative Syntheseorte von IL-17 lokalisiert. Hierrunter zählen $\gamma\delta$ T-Zellen (6, 12, 26, 43, 47, 66, 79, 89, 94, 183), natürliche Killer-Zellen (6, 26, 66, 79, 94, 183), NKT (43, 47, 89, 94, 183), Neutrophile Granulozyten (6, 79, 89, 94), Makrophagen (47, 183) und Paneth-Zellen (89, 96).

ROR- γ t ist der linienspezifische Transkriptionsfaktor von Th-17-Zellen (26, 41, 66, 74, 77, 79) und ermöglicht die Induktion von Th-17-assoziierten Zytokinen (43), einschließlich des IL-17A (10, 12, 66, 87, 169), IL-17F (10, 12, 48, 169), IL-22 (10), IL-23R (10, 48, 77, 87, 94, 235) und GM-CSF (179). ROR- γ t fördert die Ausprägung von Th-17-Zellen und gilt als notwendig und ausreichend, um eine Th-17-Differenzierung einzuleiten (10, 77, 94, 219, 229). Seine Induktion erfolgt durch STAT3 (12, 66, 73, 79, 87, 218, 229, 235), das wiederum durch spezifische Zytokinsignale freigesetzt wird. Demzufolge sind auch die STAT3-aktivierenden Zytokine IL-6, IL-23 und IL-21 wichtige Einflussfaktoren in der Induktion von Th-17-Zellen (73, 94, 218).

Obwohl ROR- γ t-defiziente Mäuse stark verringerte Anzahlen von Th-17-Zellen und damit verbundene IL-17-Konzentrationen hervorbrachten (10, 26, 48, 66, 73, 77, 94, 179), wurde kein kompletter Defekt der Th-17-Differenzierung beobachtet (12, 41, 169, 237). Weitere Untersuchungen demonstrierten, dass eine Fülle weiterer Transkriptionsfaktoren in die Th-17-Entwicklung involviert sind (235), einschließlich IRF-4 (10, 18, 26, 66, 74, 247), AHR (10, 18, 66), BATF (10, 18, 47, 66, 74), HIF-1 α (48, 169), RUNX1 (12, 47, 66, 73), NOTCH1 (12) und ROR- α (12, 43, 66, 73, 169, 247) (siehe Tabelle 3: Th-17-assoziierte Transkriptionsfaktoren). Somit ist die Th-17-Spezialisierung ein Prozess, der aus einem komplexen Netzwerk positiv und negativ regulatorischer Transkriptionsfaktoren besteht und durch diese gesteuert wird (Abb. 10) (48, 73, 79). STAT3-Defizit in Mäusen führte zu einer verringerten Anzahl von IL-17 produzierenden-T-Zellen (73, 79, 94) und einer beeinträchtigten Expression von ROR- γ t (12, 26, 41, 66, 73, 74, 94, 229). Ähnliche Beobachtungen wurden bei dem Hyper-IgE-Syndrom festgestellt, einer dominant autosomalen Mutation des STAT3 beim Menschen (34, 41, 66, 235). Interessanterweise wiesen diese Patienten neben einem Defekt der Th-17-Differenzierung (34, 41, 48, 158, 195) eine akute Anfälligkeit gegenüber Pilzinfektionen auf (34, 43, 48, 66, 158, 235). Dieser Umstand untermauert den Wert von IL-17 (164) und Th-17-Zellen in der Wirtsabwehr (34, 235).

Sowohl STAT3 als auch ROR- γ t gelten als typische und unabdingbare Transkriptionsfaktoren in der Erzeugung von Th-17-Zellen (74, 87, 132, 229, 235). Sie arbeiten in vielerlei Hinsicht

kooperativ zusammen (79, 94, 235) und bewirken die Ausbildung einer voll funktionstüchtigen IL-17-positiven T-Zelle (77, 79).

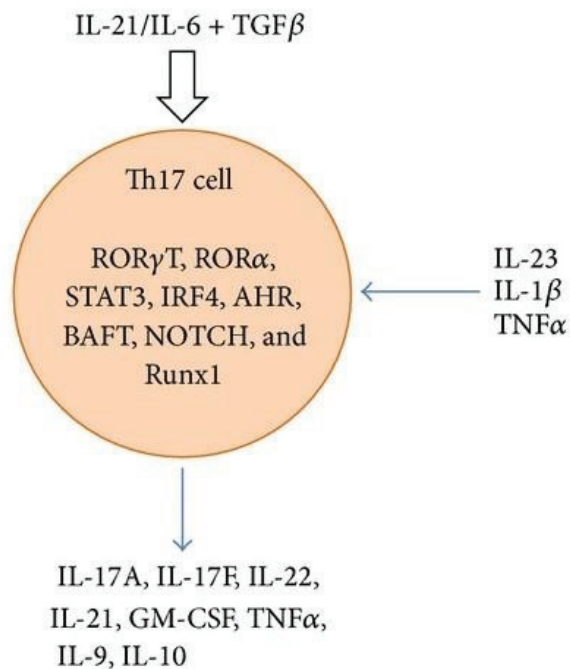


Abb. 10: Schematische Darstellung einer Th-17-Zelle der Maus und ihres variablen Expressionsmusters, die sich in der Anwesenheit verschiedener Th-17-fördernder Zytokine und diverser Transkriptionsfaktoren differenziert, modifiziert nach (12).

Im Kreis dargestellt sind verschiedene Transkriptionsfaktoren, die für eine Differenzierung von Th-17-Zellen ausschlaggebend sind und die Th-17-Differenzierung begünstigen (siehe Tabelle 3). Außerhalb des Kreises sind Th-17-fördernde Zytokine und durch Th-17-Zellen exprimierte Zytokine dargestellt. Th-17-fördernde Zytokine sind durch auf den Kreis gerichtete Pfeile gekennzeichnet, Th-17-exprimierte Zytokine durch einen vom Kreis abgewandten Pfeil.

Tabelle 3: Th-17-assoziierte Transkriptionsfaktoren

Bezeichnung der Transkriptionsfaktoren	Funktion	Refs.
IRF-4	Förderung der Th-17-Differenzierung	(10)
	Verstärkung der ROR- γ t-Expression	(48)
AHR	AHR, der auch als Dioxinrezeptor bezeichnet wird, ist ein Liganden-abhängiger Transkriptionsfaktor, der die Th-17-Differenzierung fördert	(12)
	AHR-Ligandenbindung und Aktivierung führt zu einer Zunahme der Th-17-Zellanzahl und verstärkten Expression von IL-22, IL-17A und IL-17F	(12)
BATF	Förderung der Th-17-Differenzierung in Kooperation mit ROR- γ t	(48)
	Aufrechterhaltung der ROR- γ t-Expression	(48)
NOTCH1	Regulation der IL-17- und ROR- γ t -Promotoren	(12)
	Förderung der Th-17 Spezialisierung	(12)
ROR- α	kooperiert mit ROR- γ t in einer Expression von IL-17 und einer Förderung der Th-17-Differenzierung	(66, 169)
ROR- γ t	linienspezifischer Transkriptionsfaktor der Th-17-Zellen, der für eine vollständige Th-17-Differenzierung notwendig ist	(10, 12, 48, 77, 94, 169, 219, 229)
	Regulation der Th-17-spezifischen Gene il17f, il17a, il23r, il22, gm-csf	(10, 48, 179)
HIF-1 α	weiterer Schlüssel-Transkriptionsfaktor der Th-17-Differenzierung, der unter TCR-Aktivierung und hypoxischen Bedingungen induziert wird	(48)
	Förderung der ROR- γ t Transkription und Bildung eines Komplexes mit ROR- γ t zur Verstärkung der IL-17 Expression	(48, 169)

STAT3	Förderung der Th-17-Differenzierung durch eine Induktion der Th-17-assoziierten Zytokine IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-23R	<u>IL-23R</u> (48, 77, 79, 87, 94, 158, 235) <u>IL-21</u> (26, 77, 79, 94, 229, 247) <u>IL-17A</u> (12, 26, 47, 74, 77, 79, 87, 94, 229, 247) <u>IL-17F</u> (26, 66, 79)
	Induktion des linienspezifischen Transkriptionsfaktors der Th-17-Untergruppe ROR- γ t	(48)
	Unterdrückung der Foxp3-Expression durch TGF- β	(48)
RUNX1	Co-Faktor der Th-17-Differenzierung, der eine Bindungsstelle am Promotor des ROR- γ t besitzt	(12, 66, 251)
	Komplexbildung mit ROR- γ t zur gesteigerten Expression von IL-17	(101, 179, 251)
	Unterdrückung der hemmenden Wirkung des Th-17-Inhibitors Foxp3 durch Komplexbildung	(12, 89, 96, 233, 251)

5.1. Th-17-Differenzierung

Die Th-17-Zelldifferenzierung kann als zweistufiger Prozess betrachtet werden, der aus einer Früh- und Spätphase besteht (48, 73, 132). Als potente und bekannte Th-17-fördernde Faktoren gelten die STAT3-aktivierenden Zytokine IL-6, IL-21 und IL-23 (18, 43, 47, 73, 74, 77, 94), zusammen mit TGF- β , IL-1 β (18, 43, 47, 66, 73, 77, 94) und TNF- α (12, 122, 133) (siehe Tabelle 4: Wirkung verschiedener Zytokine auf die Th-17-Differenzierung der Maus). In der Frühphase sind besonders entzündungseinleitende Mediatoren, wie IL-1 β (6, 48, 73), TGF- β (6, 48, 66, 121, 132), IL-6 (6, 48, 66, 73, 121, 132) und IL-21 (6, 73, 132) von großer Bedeutung. Sie begründen eine Initiation und Grundaktivität der Th-17-Differenzierung (66, 73, 132), vermitteln eine Inhibition und Abgrenzung zu anderen T-Helfer-Zelluntergruppen (66), und ermöglichen der Zelle, in eine IL-23-abhängige Spätphase einzutreten (66, 73, 121).

Im Gegensatz dazu steht in der Spätphase eine ausgeprägte Th-17/IL-23-Achse im Vordergrund, die eine Etablierung und Stabilisierung des Th-17-Phänotyps bewirken (73, 132). Interessanterweise wird der zugehörige IL-23-Rezeptor nur geringfügig auf naiven T-Zellen exprimiert (6, 10, 26, 66, 73, 78, 79, 94, 195), so dass diese Zellen im ruhenden, nicht entzündeten Stadium unempfindlich für IL-23-Signale sind (73, 77, 78, 142). Daher müssen erst über andere wegbereitende Zytokine, wie IL-6 (66, 73, 78, 79, 94, 132, 158, 195), IL-21 (73, 79, 94, 158, 195), optimale Bedingungen für dieses Signal geschaffen werden (77), bevor IL-23 die Expression des IL-23 Rezeptors selbst regulieren kann (10, 12, 26, 48, 66, 195).

Bedeutung von TGF- β

TGF- β wird als wesentlicher Faktor in der Differenzierung von Th-17- und Treg-Zellen angesehen (10, 12, 26, 74, 77, 78, 94, 169, 183, 218) und demonstriert, wie eng diese beiden Populationen miteinander verknüpft sind (Abb. 11) (10, 26, 41, 74, 77, 94, 169). Neben TGF- β ist die Expression von ROR- γ t ebenfalls von STAT3-aktivierenden Zytokinen abhängig (6, 77, 94, 195). Nur die Kombination von TGF- β zusammen mit den STAT3-aktivierenden Zytokinen IL-6 (6, 10, 12, 26, 66, 77, 94, 120, 132, 169) oder IL-21 (6, 74, 77, 94, 169) konnte in naiven Maus-T-Zellen die Expression von ROR- γ t (78, 132, 158) und IL-

17 (78, 132) auslösen. TGF- β allein induzierte stattdessen die Expression von Foxp3 (10, 14, 66, 73, 74, 77, 78, 94), des linienspezifischen Transkriptionsfaktors von Treg-Zellen (26, 94, 169), der die Th-17-Differenzierung hemmt und das Wachstum von Treg-Zellen fördert (41, 66, 74, 77, 78, 89, 94, 169). Somit scheint die Wirkung von TGF- β stark vom umliegenden Milieu (10, 12, 77, 158) und seiner Konzentration (158) abzuhängen.

Unabhängig davon wird angenommen, dass TGF- β eine indirekte Förderung des Th-17-Programmes vermittelt, indem es andere T-Zellprogramme effektiv unterdrückt (6, 48, 66, 74, 79). In diesen Zusammenhang inhibierte es die Expression von T-bet (6, 26, 66, 74, 79, 158) und GATA-3 (6, 26, 66, 74, 79, 158), der linienspezifischen Transkriptionsfaktoren von Th-1- und Th-2-Zellen, die für sich ihr eigenes Zellprogramm fördern und das der Th-17-Untergruppe inhibieren würden. Die Abgrenzungen zur Th-1- und Th-2-Untergruppe stellen einen bedeutsamen Punkt in der Etablierung des Th-17-Programmes dar (48, 195).

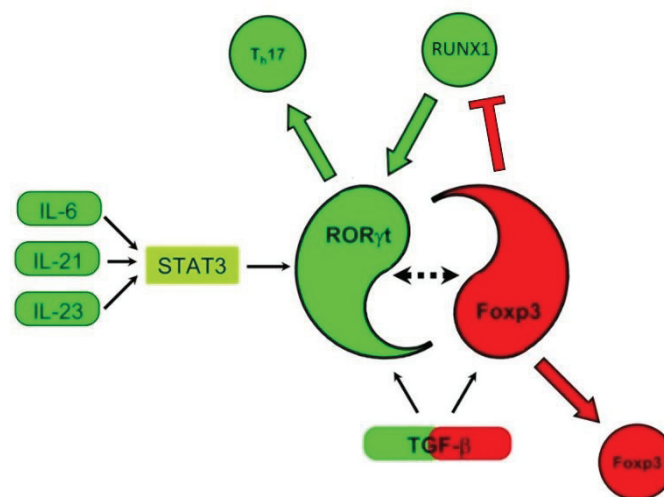


Abb. 11: Veranschaulichung der reziproken Entwicklungsbeziehung zwischen Th-17- und Treg-Mauszellen und der kritischen Rolle von TGF- β und den STAT3-aktivierenden Zytokinen IL-6, IL-21 und IL-23 für das jeweilige Zellschicksal, abgewandelt nach (77).

ROR- γ t und Foxp3 sind zentrale Faktoren in der Th-17- und Treg-Zelldifferenzierung. Th-17-fördernde Zytokine (grün) induzieren ROR- γ t durch eine Aktivierung von STAT3 (IL-6, IL-21 und IL-23). Jedoch kann keines der ROR- γ t-induzierenden Zytokine in der Abwesenheit von TGF- β eine Th-17-Differenzierung auslösen. TGF- β besitzt eine Doppelrolle in diesem Prozess. Einerseits fördert es in Kombination mit STAT3-aktivierenden Zytokinen die Expression von ROR- γ t (grün), andererseits induziert es die Expression von Foxp3, das die Th-17-Differenzierung hemmt (rot). Es wird angenommen, dass Foxp3 sowohl durch direkte Interaktion mit ROR- γ t als auch über eine reduzierte Transkription von Th-17-spezifischen Genen (41), oder über eine Interaktion mit Th-17-fördernden Transkriptionsfaktoren, wie dem RUNX1 (251), als Inhibitor des ROR- γ t und der Th-17-Differenzierung agiert.

Bedeutung von IL-6

IL-6 ist ebenfalls essenziell für Th-17-Zellen (12, 14, 48, 74, 94, 235) und gilt als starker Aktivator von STAT3 (26, 47, 48, 74, 77, 94, 132, 229). Es begründet über die gesteigerte Aktivität dieses Transkriptionsfaktors die Induktion von ROR- γ t (48, 74, 78, 94, 179) und IL-21 (6, 12, 14, 77, 79, 94, 237). Es besitzt eine zentrale Rolle als Regulator des Treg/Th-17-Populationsgleichgewichtes (10, 78, 94). Demzufolge war es IL-6 (14, 41, 74, 78, 89, 94, 133) wie IL-21 (74, 89, 94) möglich, die von TGF- β ausgehende Induktion von Foxp3 zu blockieren und durch eine alternative ROR- γ t Expression (74) zu ersetzen. Auf diese Weise treibt es die Spezialisierung weiter in Richtung der Th-17-Untergruppe und schafft eine klare Abgrenzung zur Treg-Untergruppe.

Bedeutung von IL-21

Mit dem IL-6-induzierbaren IL-21 (6, 12, 14, 79, 94), wird den Th-17-Zellen die Fähigkeit verliehen, ihre eigene Zellpopulation in einer autokrinen-positiven Rückkopplungsschleife entscheidend zu festigen (Abb. 12) (6, 12, 14, 77, 79, 94, 121, 229, 237). Wie IL-6 ist auch IL-21 ein Aktivator von STAT3 (26, 47, 74, 77, 94, 132, 229). Demnach vermittelt auch IL-21 eine gesteigerte Expression von ROR- γ t (10, 77, 94, 126, 179, 229) und STAT3-abgeleiteter Transkripte. IL-21 stellt selbst eines der stärksten Transkripte dar, die auf diese Weise freigesetzt werden (77, 94, 155, 216) und steht in unmittelbarer Abhängigkeit zu STAT3 (10, 77, 94, 216). Das Signalprotein STAT3 ist dazu befähigt, auf Th-17-assoziierte Zytokinpromotoren zuzugreifen und die Sekretion von IL-23R (48, 77, 79, 87, 94, 158, 235), IL-17A (12, 26, 47, 74, 77, 79, 87, 94, 229, 247), IL-17F (26, 66, 79) und IL-21 (26, 77, 79, 94, 229, 247) einzuleiten. Dementsprechend besitzt IL-21 die Fähigkeit, seine eigene Produktion (12, 66, 77, 229) und die des IL-23R (12, 66, 73, 77) in einem STAT3-abhängigen Mechanismus zu regulieren (26, 94). Somit könnte IL-21 als wichtiger und nötiger Zwischenschritt in der Verstärkung der Th-17-Differenzierung und IL-6-vermittelten Induktion von IL-23R angesehen werden (12, 77, 94). Parallel zum STAT3 fungiert auch ROR- γ t als Regulator der Expression des IL-23R (10, 48, 77, 87, 94). Sowohl IL-21-defiziente Mäuse als auch ROR- γ t-defiziente Zellen wiesen geringere Gehalte an Th-17-Zellen (10) und IL-23 Rezeptoren (77, 94, 260) auf. Die kontinuierliche Hochregulation von STAT3 und ROR- γ t begründet das Grundgerüst der Th-17-Differenzierung und vermittelt über die

kontinuierliche Expression von IL-23R (10, 66, 87, 93, 94) den Übergang in die Spätphase, sowie die Ausbildung eines voll funktionstüchtigen Th-17-Phänotyps.

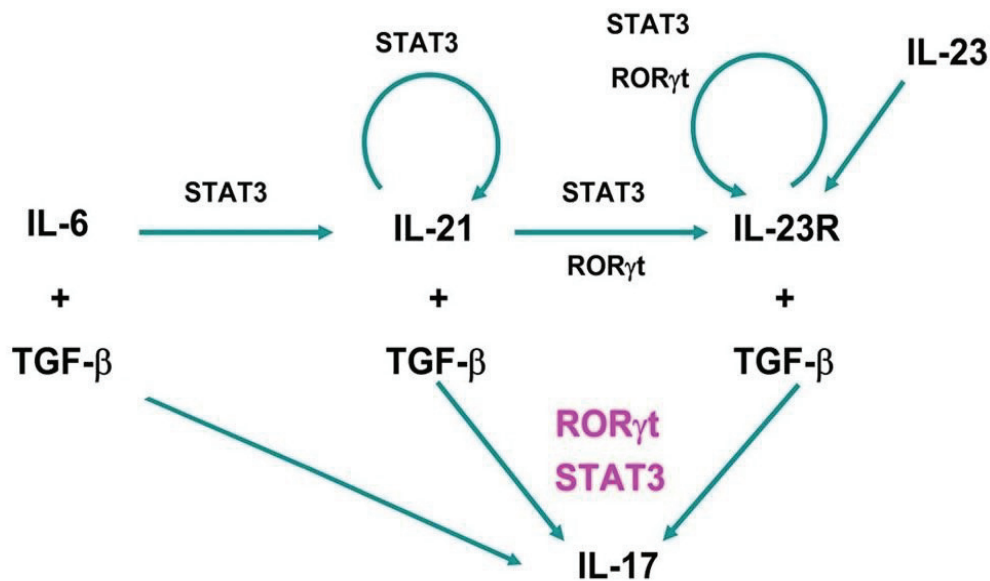


Abb. 12: Betrachtung der selektiven Rollen von IL-6, IL-21, TGF- β und IL-23 im Prozess der stetigen Hochregulation von ROR- γ t und STAT3, sowie der damit assoziierten verstärkten Expression von IL-23-Rezeptoren, verändert nach einer Abbildung von (77).

IL-6 induziert über eine Aktivierung von STAT3 IL-21, das wiederum seine eigene Transkription in einer STAT3-abhängigen Weise induziert. Die Expression des IL-23-Rezeptors wird durch IL-21 und IL-23 induziert und durch ROR- γ t und STAT3 vermittelt. Kombinationen von IL-6+TGF- β , IL-21 +TGF- β und IL-23+TGF- β bewirken eine Th-17-Differenzierung von naiven T-Zellen. Eine vollständige Differenzierung von Th-17-Zellen erfordert das Zusammenspiel von STAT3 und ROR- γ t.

Bedeutung von IL-23

Während IL-23 nahezu nicht in der Anfangsphase der Th-17-Differenzierung registriert wurde und keine signifikante Rolle für den Initiationsprozess dieses Vorganges einnimmt (6, 10, 47, 48, 77, 79, 94, 142, 179, 229), scheint es umso präsenter in der Spätphase (14, 73, 77, 78, 132). Es wird angenommen, dass IL-23 eine zentrale Funktion innerhalb der Th-17-Differenzierung ausübt (Abb. 12) (132) und durch zahlreiche Mechanismen eine Förderung der Th-17-vermittelten Pathogenität herbeiführt (48). Damit übereinstimmend könnte IL-23 für eine Expansion und Proliferation von zuvor differenzierten Th-17-Zellen (78, 93), eine Aufrechterhaltung der IL-17-Produktion (48, 78, 132), sowie für eine vollständige terminale Differenzierung und Aktivität von Th-17-Zellen ausschlaggebend

sein (6, 10, 79, 94, 132). Das STAT3-aktivierende IL-23 (26, 47, 74, 77, 94, 132, 229) könnte eine positive Verstärkungsschleife begründen (77, 94, 260), die eine vermehrte Expression von Th-17-typischen Signaturgenen vorsieht (48), einschließlich ROR- γ t (10, 48, 77, 94, 126, 142, 235, 260), IL-17 (48, 78, 132), IL-23R (48, 77, 132, 260) und des Effektorzytokins IL-22 (48, 132). Durch die STAT3-abhängige Hochregulation der IL-23R-Expression verstärkt IL-23 nicht nur seinen eigenen Signalweg (10, 77, 260), sondern treibt parallel dazu die Differenzierung und Stabilisierung pathogener Th-17-Zellen voran (12, 48). Dieser Mechanismus könnte zudem eine plausible Erklärung für die auf IL-23 basierende Stabilisierung des Th-17-Phänotyps (10, 48) und seinen Einfluss auf das Fortbestehen und Überleben von IL-17-produzierenden T-Zell-Populationen liefern (12, 26, 43, 47, 73, 77, 94, 132, 142, 179, 229). Ohne das Zutun von IL-23 oder seinem zugehörigen Rezeptor verblieben Th-17-Zellen in einem frühen Aktivierungsstadium, das in Kombination mit einer verringerten IL-17-Produktion, der eingeschränkten Anzahl IL-17-positiver T-Zellen und einer limitierten Pathogenität auftrat. Veranschaulicht wurde dies in einem Modell der EAE in der Maus (132). Demnach spekuliert man, dass IL-23 bzw. die IL-17/IL-23-Achse ein wichtiger Vermittler für das pathologische Potential von Th-17-Zellen ist (10, 12, 14, 48, 122, 132, 179, 183) und eine unverzichtbare Funktion in der Ausprägung organspezifischer Autoimmunerkrankungen erfüllt (48, 183). In diesem Zusammenhang waren auch IL-23p19-defiziente Mäuse resistent vor EAE (10, 12, 14, 73, 77, 94, 120, 179, 235) und CIA (10, 14, 78, 122), und wiesen schwerwiegende Defekte in der Erzeugung und der Anzahl von IL-17 produzierenden T-Zellen auf (10, 14, 78, 94, 132).

Trotz der Fortschritte in der Entschlüsselung des Th-17-Transkriptionsnetzwerkes fehlt nach wie vor ein klares Verständnis für die IL-23 zugrundeliegenden Mechanismen, die eine pathogene Th-17-Entwicklung steuern (48). Es wurde darauf aufmerksam gemacht, dass die STAT3-Aktivierung allein nicht die Notwendigkeit von IL-23 in der Erzeugung pathogener Th-17-Zellen erklärt, da IL-6 ein ebenso potenter Aktivator von STAT3 ist (48). Somit müssen weitere IL-23-abhängige Signalwege oder Transkriptionsregulationen existieren, die eine Förderung der entzündlichen Effektorfunktionen von Th-17-Zellen begründen (48).

Die zuvor dargestellten Th-17-fördernden Zytokine begründen eine konstante Induktion des pathogenen IL-17. Ersichtlich wurde dies an verschiedenen Modellen von IL-6-, IL-21-

und IL-23-defizienten Tieren, die eine deutliche Reduktion von IL-17-produzierenden T-Zellen und eine Resistenz gegenüber EAE aufwiesen (10). Das freigesetzte IL-17 scheint selbst keinen direkten Einflussfaktor für den Th-17-Differenzierungsprozess darzustellen. Interessanterweise zeigten einige Quellen, dass IL-17 eine vermehrte Freisetzung von IL-6 und anderen pro-inflammatorischen Zytokinen aus Astrozyten (124) und Fibroblasten (160) bewirkt. Demnach könnte IL-17 durch die vermehrte Ausschüttung des potenten STAT3-Aktivators IL-6 (132) eine indirekte Förderung und positive Rückkopplung der Th-17-Entwicklung herbeiführen (124, 160). Diese Problematik wird im späteren Verlauf im Abschnitt „Interaktion von IL-17 und IFN- γ “ nochmals aufgegriffen und erläutert.

Bedeutung von IL-1 β und TNF- α

Auch IL-1 β (18, 73, 122, 218) und TNF- α (12, 133, 255) können förderliche Einflüsse auf die Th-17-Differenzierung ausüben. TNF- α bewirkt die Migration neuer naiver T-Zellen zum Entzündungsort (153) und löst in seinem weiteren Signalweg eine NF- κ B-abhängige Expression von IL-6, IL-8 und IL-1 β aus (133, 255). Besonders IL-1 β scheint eine übergeordnete Rolle in der Initiation des Th-17-Programmes (48) und in der Ausbildung ROR- γ t-exprimierender Zellen einzunehmen (6, 73, 218). Es wurde berichtet, dass es die Retinsäure, den Inhibitor der Th-17-Differenzierung, ausschalten kann (218) und gleichzeitig die Freisetzung des Th-17-fördernden IRF-4 einleitet (48, 73, 74, 122).

Tabelle 4: Wirkung verschiedener Zytokine auf die Th-17-Differenzierung der Maus

Bezeichnung Zytokine	Funktion	Refs.
IL-6	<p>einleitender Faktor der Th-17-Differenzierung</p> <p>Induktion der Transkriptionsfaktoren STAT3, ROR-γt und des Th-17-polarisierenden Zytokins IL-21</p>	<p>(48, 158)</p> <p><u>STAT3</u> (26, 47, 48, 74, 77, 94, 132, 229)</p> <p><u>ROR-γt</u> (48, 74, 78, 94, 179)</p> <p><u>IL-21</u> (6, 12, 14, 77, 79, 94)</p>

	Unterdrückung der Foxp3-Expression, eines Inhibitors der Th-17-Differenzierung	(74)
TGF- β	<p>einleitender Faktor der Th-17-Differenzierung</p> <p>indirekte Förderung des Th-17-Programmes durch Unterdrückung der Transkriptionsfaktoren T-bet und GATA-3 (negative Regulatoren der Th-17-Differenzierung)</p>	<p>(10, 12, 26, 74, 77, 78, 94, 169, 183, 218)</p> <p><u>T-bet</u> (6, 26, 66, 74, 79, 158) <u>GATA-3</u> (6, 26, 66, 74, 79, 158)</p>
IL-1 β	<p>einleitender Faktor der Th-17-Differenzierung</p> <p>Induktion des Th-17-fördernden Transkriptionsfaktors IRF-4</p> <p>Hemmung der Retinsäure, eines Inhibitors der Th-17-Differenzierung</p>	<p>(48)</p> <p>(48, 73, 74, 122)</p> <p>(218)</p>
IL-21	<p>intermediärer Faktor der Th-17-Differenzierung zur Förderung und Festigung der Th-17-Untergruppe durch Schaffung einer autokrinen positiven Rückkopplungsschleife</p> <p>Induktion von STAT3 und ROR-γt</p> <p>Unterdrückung der Foxp3-Expression, eines Inhibitors der Th-17-Differenzierung</p>	<p>(6, 12, 14, 77, 79, 94, 121, 229, 236)</p> <p>(26, 47, 74, 77, 94, 132, 229)</p> <p>(74, 89, 94)</p>
IL-23	<p>wichtiger Faktor in der späten Th-17-Differenzierung zur Stabilisierung von pathogenen Th-17-Zellen</p> <p>Induktion von STAT3 und ROR-γt</p> <p>Vermittlung einer Expansion und Proliferation von zuvor differenzierten Th-17-Zellen</p>	<p>(12, 48)</p> <p>(43)</p> <p>(78, 93)</p>
TNF- α	<p>Förderung der Th-17-Differenzierung</p> <p>Migration neuer naiver T-Zellen zum Entzündungsort</p> <p>NF-κB-abhängige Expression der Th-17-fördernden Faktoren IL-6 und IL-1β</p>	<p>(12, 133, 255)</p> <p>(153)</p> <p>(133, 255)</p>

5.2. Th-17-Differenzierung beim Menschen

Während rasante Fortschritte in dem Gebiet der Th-17-Differenzierung in der Maus gemacht wurden, birgt die menschliche Th-17-Differenzierung noch viele Unklarheiten (77, 94) (siehe Abb. 13).

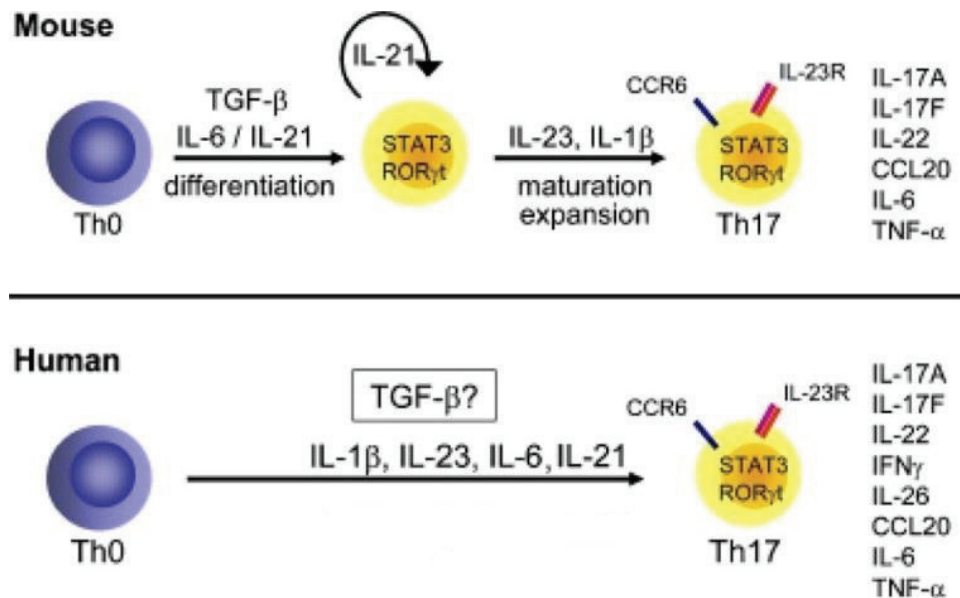


Abb. 13: Vergleich der menschlichen und Maus-spezifischen Th-17-Differenzierung und ihrer ausschlaggebenden Faktoren, modifiziert aus einer Abbildung von (19).

In der Th-17-Differenzierung von naiven T-Zellen (Th0) der Maus spielen Zytokine wie IL-6, IL-21, TGF-β eine wichtige Rolle in der Initiierung des Differenzierungsprozesses. IL-21 fungiert mittels einer positiven Rückkopplungsschleife als wichtiger Mediator in einer Stabilisierung des Th-17-Programmes und in einer vermehrten Aktivität von STAT3 und ROR-γt. In der späten Phase der Th-17-Differenzierung der Maus bewirken IL-23 und IL-1β eine Expansion und Aufrechterhaltung des Th-17-Programmes und seiner typischen Expressionsmuster von STAT3 und ROR-γt. Voll differenzierte Maus-spezifische Th-17-Zellen zeichnen sich durch eine Expression von IL-17A, IL-17F, IL-22, CCL20, IL-6 und TNF-α aus.

Im Gegensatz zur Maus ist die Beteiligung von TGF-β in der Mensch-spezifischen Th-17-Differenzierung von naiven T (Th0) -Zellen umstritten. Es wurde festgestellt, dass die Zytokine IL-1β, IL-23, IL-6 und IL-21 in verschiedenen Kombinationen an einer Erzeugung von menschlichen Th-17-Zellen mitwirken, die sowohl ROR-γt als auch STAT3 exprimieren. Th-17-Zellen des Menschen exprimieren wie Maus-spezifische Th-17-Zellen den CCR6 Rezeptor und induzieren ein breites Spektrum pro-inflammatorischer Mediatoren, einschließlich des IL-17A, IL-17F, IL-22, IFN-γ, IL-26, CCL20, IL-6 und TNF-α.

Hierbei wirft vor allem die Bedeutung von TGF-β große Fragen auf (66, 77, 133). TGF-β zählt zu den tragenden Faktoren in der Th-17-Spezialisierung der Maus (77), seine Stellung in der menschlichen Differenzierung von Th-17-Zellen ist hingegen nach wie vor umstritten (6,

34). Einige Studien demonstrierten, dass TGF- β für die menschliche Differenzierung von Th-17-Zellen entbehrlich sei (26, 36, 66, 74, 79, 94), andere, dass es die Th-17-Zellen hemmt (1, 26, 66, 77, 89, 195) oder sogar eine ähnliche Bedeutung wie in der Maus-spezifischen Th-17-Differenzierung besäße (66, 94, 127, 169, 179, 195, 220). Fest steht, dass in der menschlichen Spezialisierung von Th-17-Zellen vor allem IL-1 β (1, 34, 36, 66, 74, 77, 79, 89, 127, 133, 195, 220, 232) und IL-23 (1, 34, 36, 66, 74, 79, 87, 89, 127, 133, 195, 220, 232) bedeutsam sind und ebenfalls IL-6 und IL-21 an diesen Entwicklungsprozess teilnehmen (1, 6, 66, 74, 79, 89, 127, 195, 220, 232). Anders als in der Maus, wird der IL-23-Rezeptor auch ohne vorherige Einwirkung von IL-6 und IL-21 von naiven CD161+CD4+T-Zellen exprimiert, so dass sie umgehend auf IL-23 vermittelte Signale eingehen können (195). Die Kombination von IL-23 und IL-1 β konnte auch ohne Beteiligung von TGF- β Th-17-Zellen induzieren (34, 36, 195). Allerdings war es TGF- β möglich, als Antwort auf IL-1 β und IL-23 die relative Anzahl der differenzierten Th-17-Zellen während dieses Prozesses wesentlich zu erhöhen (34, 195). Eine plausible Erklärung hierfür ist, ähnlich wie bei der Maus, der hemmende Einfluss von TGF- β auf die T-bet-vermittelte Th-1-Differenzierung (34, 66, 195). Im Gegensatz zur Maus spielt IL-6 nur eine untergeordnete Rolle für die Th-17-Differenzierung beim Menschen (195), obgleich es dennoch förderlich für den Spezialisierungsvorgang ist.

Zusammengefasst zeigt die Th-17-Differenzierung bei Maus oder Mensch viele Unterschiede (77, 195), und es bedarf weit mehr Untersuchungen, um die Mechanismen vollständig zu entschlüsseln und aufzuklären.

Zusammenfassend sind Th-17-Zellen eine Population von CD4+T-Zellen (47, 73, 183), die sich durch eine Expression von IL-17 und ROR- γ t auszeichnen (10, 12, 48, 77, 94, 169, 219, 229). Es wird angenommen, dass diese Zellen eine wichtige Rolle in der Ausprägung von autoimmunen Erkrankungen übernehmen, wie der RA (6, 12, 34, 87, 133, 169, 219, 235), bei der MS (6, 12, 34, 79, 169, 219, 235), bei entzündlichen Darmerkrankungen (6, 12, 34, 169, 219, 235), oder der Psoriasis (6, 12, 169, 219, 235). Th-17-Zellen leisten einen wichtigen Beitrag zum Schutz gegen bakterielle und mykotische Pathogene durch die Produktion und Induktion von entzündlichen Zytokinen und anderen Proteinen (12). Sie stellen eine lebenswichtige Komponente der angeborenen Immunantwort dar, indem sie

eine Induktion der Granulopoese und Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten vermitteln (12).

Die Differenzierung dieser Zellen erfolgt aufgrund spezifischer Erregerarten (43, 66, 77, 94), Zytokine (14, 18, 43, 73, 74, 77, 94, 120, 237) und davon abgeleiteter Transkriptionsfaktoren (94) (siehe Tabelle 3: Th-17-fördernde Transkriptionsfaktoren), von denen besonders STAT3 und ROR- γ t eine wichtige Rolle in der nachfolgenden Betrachtung einzuräumen sind. ROR- γ t ist der Masterregulator (linienspezifischer Transkriptionsfaktor) der Th-17-Line (26, 41, 66, 74, 77, 79) und ein wichtiger Faktor für eine vollständige Th-17-Differenzierung (10, 77, 94, 219, 229).

Die Th-17-Differenzierung ist ein komplexer Vorgang, der in eine initiale und späte Phase untergliedert werden kann (48, 73, 132). In der Anfangsphase kommen Zytokine wie IL-1 β (6, 48, 73), TGF- β (6, 48, 66, 121, 132), IL-6 (6, 48, 66, 73, 121, 132) und IL-21 (6, 73, 132) zum Tragen, während die Spätphase bevorzugt durch eine Aktivität von IL-23 bestimmt wird (14, 48, 73, 77, 78, 132). Während der Initialisierung des Th-17-Programmes findet eine stetige Aktivierung von STAT3 und ROR- γ t durch Zytokine wie IL-6 (48, 74, 78, 94, 179) und IL-21 (6, 12, 14, 77, 79, 94, 237) statt, sowie eine Unterdrückung von anderen linienpezifischen Transkriptionsfaktoren und inhibierenden Faktoren durch TGF- β (6, 48, 66, 74, 79) und IL-1 β (218). In der Spätphase vermittelt IL-23 eine Stabilisierung und Expansion der differenzierten Th-17-Zellen (10, 48, 78, 93) durch eine Verstärkung seines eigenen Signalweges (10, 48) und der Aktivität von ROR- γ t (10, 48) und STAT3 (26, 47, 74, 77, 94, 132, 229).

Im Gegensatz zur Th-17-Differenzierung der Maus scheint die Th-17-Differenzierung des Menschen bevorzugt von Faktoren wie dem IL-23 (1, 36, 127, 220, 232), IL-1 β (1, 36, 127, 220, 232), IL-21 (1, 127, 220, 232) abzuhängen. Anders als in der Maus wird der IL-23-Rezeptor auch ohne vorherige Einwirkung von IL-6 und IL-21 von naiven CD161+CD4+T-Zellen exprimiert, so dass sie umgehend auf IL-23 reagieren können (195). Die Rolle des TGF- β in diesem Prozess wirft viele Fragen auf (66, 77, 133). Obwohl seine Beteiligung in der Th-17-Differenzierung des Menschen nach wie vor umstritten ist, zeigten Kulturen von CD161+CD4+T-Zellen, die mit IL-1 β , IL-23 und TGF- β polarisiert wurden, eine erhöhte relative Anzahl Th-17-differenzierter Zellen, im Vergleich zu Kulturen von CD161+CD4+T-

Zellen, die ausschließlich mit IL-1 β und IL-23 polarisiert wurden (34, 195). Somit scheint TGF- β , wie in der Th-17-Differenzierung der Maus, eine Unterdrückung von T-bet zu vermitteln (34, 66, 195).

6. Funktion und Bedeutung von Th-1-Zellen

Th-1-Zellen gehören zur Gruppe der T-Helfer-Zellen und stellen eine weitere Differenzierungsform CD4+ spezifischer T-Zellen dar (66, 120, 179). Sie werden, wie Th-17-Zellen, in gehäufte Form bei autoimmunen Erkrankungen diagnostiziert und besitzen zusätzlich zu ihrer pathologischen Funktion (94, 183) eine wichtige Funktion in der Abwehr intrazellulärer Erreger (10, 12, 73, 74). Hauptkennungsmerkmal dieser Zellpopulation ist eine ausgeprägte Expression von IFN- γ (66, 74, 77, 87, 183, 229) und T-bet (10, 18, 66, 73, 74, 183). Zusätzlich weisen sie Expressionen von IL-2 (183, 191), TNF- α (43, 120, 183) und GM-CSF auf (43, 183). Obwohl Th-1-Zellen als wichtige Produzenten von IFN- γ angesehen werden (94), besitzen viele andere Zellen des angeborenen und erworbenen Immunsystems die Fähigkeit, diesen Botenstoff freizusetzen, so dass NK (43, 191, 196), DCs

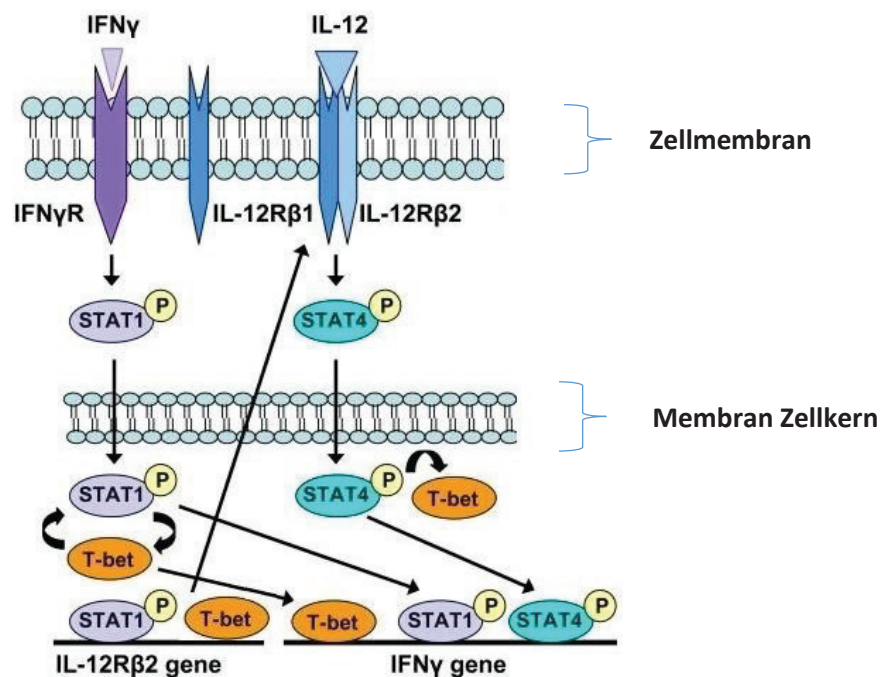


Abb. 14: Schema der Th-1-Signalwege in Bezug auf die Wirkungsweise der Th-1-assoziierten Zytokine IFN- γ und IL-12, sowie ihrer nachgeschalteten STAT-Faktoren, abgewandelt nach einer Darstellung von (120).

Als Reaktion einer Liganden-Bindung von IFN- γ und IL-12 an ihren Rezeptorkomplexen setzt eine Phosphorylierung von STAT1 und STAT4 ein. Diese ermöglicht eine Induktion des linspezifischen Transkriptionsfaktors T-bet, der für eine erfolgreiche Th-1-Differenzierung erforderlich ist. T-bet besitzt die Fähigkeit, an den Promotoren der Th-1-assoziierten Gene IL-12R β 2 und IFN- γ zu binden und deren Aktivierung einzuleiten. Unabhängig von T-bet können auch STAT1 und STAT4 für eine Induktion dieser Gene ausschlaggebend sein, so dass STAT1 über eine Bindungsstelle am IL-12R β 2 und IFN- γ Promotor verfügt und STAT4 über eine Bindungsstelle am IFN- γ Promotor.

(43, 196), NKT- Zellen (196) und Makrophagen (196) in diesen Zusammenhang zu benennen sind.

T-bet ist der linienspezifische Transkriptionsfaktor von Th-1-Zellen (43). Er setzt eine Th-1-Differenzierung in Gang (18, 77, 130, 219, 229, 240) und ermöglicht die Aktivierung von Th-1-assoziierten Genen (159), wie IFN- γ (10, 18, 94, 159, 219) und IL-12R β 2 (18, 55, 94, 120, 219) (siehe Tabelle 5: Faktoren der Th-1-Differenzierung). Die Induktion von T-bet wurde größtenteils unter der STAT1 (18, 43, 55, 120, 159, 195, 219, 229) und STAT4 (159) vermittelten Wirkungen von IFN- γ und IL-12 beobachtet (18, 74, 120). Dementsprechend gelten beide Zytokine als essentielle Förderer und Induktoren der Th-1-Differenzierung (43, 79, 94, 159, 183, 237, 240). Während die Expression der IL-12R β 1-Kette konstitutiv erfolgt (120), ist die Induktion der IL-12R β 2-Kette von T-bet (18, 25, 55, 59, 74, 219) und STAT1 abhängig (43, 120). Somit bildet T-bet gleich in zweifacher Hinsicht positive Rückkopplungsmechanismen aus. Es verstärkt die IL-12-vermittelte Förderung des Th-1-Programmes (18, 25, 55, 59, 209) und begünstigt über die Induktion von IFN- γ seine eigene Expression (17, 108, 219). Parallel zum T-bet wurde auch über eine direkte Induktion von IFN- γ durch STAT1 und STAT4 (158, 209) berichtet, indem sie unmittelbar an den IFN- γ -Promotor binden (120, 159). Die Maus-spezifische und menschliche Th-1-Differenzierung weisen nur geringfügige Unterschiede auf (120, 195).

Tabelle 5: Faktoren der Th-1-Differenzierung

Bezeichnung	Funktion	Refs.
IL-12	Induktion von STAT4	(18, 74, 120, 159)
IFN- γ	Induktion von STAT1	(2, 86, 108, 179, 197, 229, 239)
STAT1	Induktion von T-bet Regulation des IL-12R β 2- und IFN- γ -Promotors	(43, 219) <u>IFN-γ</u> (120, 159) <u>IL-12Rβ2</u> (43, 120)
STAT4	Induktion von T-bet Regulation des IFN- γ -Promotors	(159) (120, 159)

T-bet	<p>Linien-spezifischer Transkriptionsfaktor der Th-1-Untergruppe, der für Th-1-Differenzierung von Nöten ist</p> <p>Induktion von IFN-γ und IL12Rβ2</p>	<p>(43, 219)</p> <p><u>IFN-γ</u> (10, 18, 94, 159, 219)</p> <p><u>IL-12Rβ2</u> (18, 55, 94, 120, 219)</p>
-------	--	--

Zusammenfassend stellen Th-1-Zellen eine weitere Differenzierungsform von CD4+T-Zellen dar (66, 120, 179), die sich durch eine Produktion von IFN- γ (179) und T-bet (10, 18, 66, 73, 74, 183, 219) auszeichnen. Th-1-Zellen sind für die Eliminierung von intrazellulären Pathogenen essentiell, werden aber auch als Haupteffektor-T-Zellen bei der Induktion von Gewebeentzündungen in organspezifischen Autoimmunitäten angesehen (179).

T-bet ist der linien-spezifische Transkriptionsfaktor von Th-1-Zellen (43), der für eine erfolgreiche Th-1-Differenzierung (219) und Expression verschiedener Th-1-Signaturgene von Nöten ist (159), wie dem IFN- γ (10, 18, 94, 159, 219) und IL-12R β 2 (18, 55, 94, 120, 219). T-bet bildet gleich in zweifacher Hinsicht positive Rückkopplungsmechanismen der Th-1-Differenzierung aus. Es verstärkt die IL-12-vermittelte Förderung des Th-1-Programmes (18, 55, 59, 209) und begünstigt über die Induktion von IFN- γ seine eigene Expression (17, 108, 219).

Neben dem T-bet fungieren STAT1 und STAT4 als wichtige Transkriptionsfaktoren der Th-1-Differenzierung (159). STAT1 wird in Reaktion auf die IFN- γ -Signale aktiviert und verstärkt den Th-1-Phänotyp in einer positiven Rückkopplungsschleife (159), in der es eine Induktion von IFN- γ (120, 159) und IL-12R β 2 (43, 120) einleitet. Der IL-12-Signalweg induziert STAT4, das viele Aspekte des Th-1-Genprogramms positiv reguliert (159). Sowohl STAT1 (43, 219) als auch STAT4 (159) vermitteln eine Induktion von T-bet.

Im Gegensatz zur Th-17-Differenzierung weist die Maus-spezifische und menschliche Th-1-Differenzierung nur geringfügige Unterschiede auf (120, 195).

7. Interaktion von Interleukin-17 und Interferon- γ

Die Interaktion von IL-17 und IFN- γ ist ein komplizierter und umfangreicher Prozess, bei dem weder alle beteiligten Mechanismen, noch die genauen Werdegänge dieser Wechselwirkungen vollständig entschlüsselt sind (41, 74, 77). Fest steht, dass IFN- γ die Produktion von IL-17 hemmt (26, 59, 66, 68, 74, 76, 77, 170, 219, 240, 243), und dass dieser Mechanismus nicht direkt am IL-17 Rezeptor, sondern an nachgeschalteten Signalkaskaden lokalisiert sein muss. IFN- γ -defiziente oder mit Antikörper-behandelte Mäuse wiesen erhöhte Konzentrationen von IL-17 und Anzahlen an IL-17-produzierenden T-Zellen und eine verstärkte Anfälligkeit gegenüber vielen experimentellen autoimmunen Erkrankungen auf (Abb. 15) (10, 43, 59, 68, 76, 91, 170, 183, 219, 240, 243).

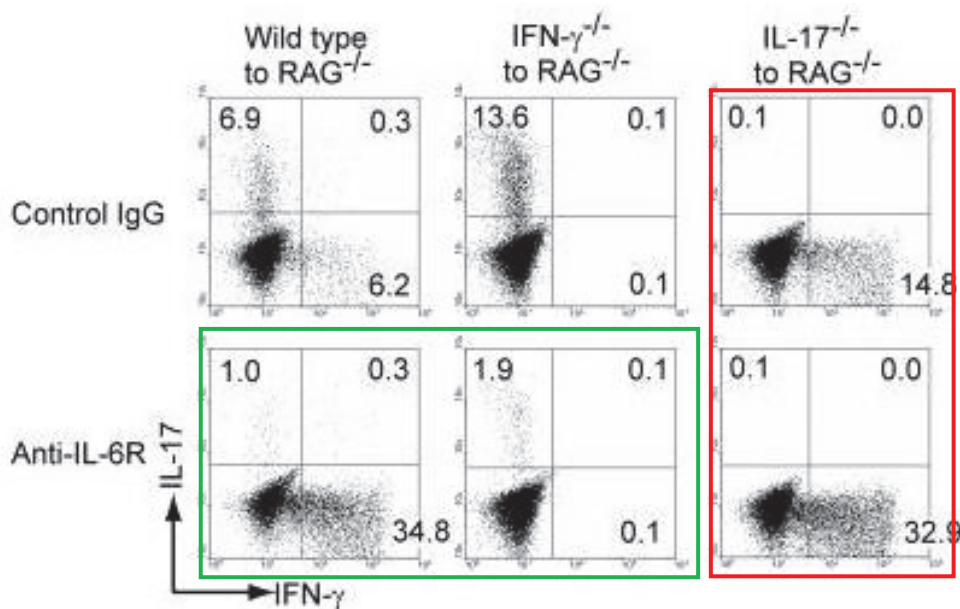


Abb. 15: Zelldurchflussanalyse von CD4⁺T-Zellen, die aus Wild-Typ-, IFN- γ ^{-/-} oder IL-17 ^{-/-} Mäusen in RAG ^{-/-} Mäuse transferiert wurden, verändert nach einer Abbildung von (68). Die linke Säule zeigt den Transfer von Wild-Typ-Mäusen auf RAG ^{-/-} Mäuse, die mittlere Säule von IFN- γ ^{-/-} Mäusen auf RAG ^{-/-} Mäuse und die rechte Säule von IL-17 ^{-/-} Mäusen auf RAG ^{-/-} Mäuse.

Die Empfänger-Mäuse wurden vorher entweder mit IgG oder einem monoklonalen Antikörper gegen den IL-6R behandelt. Auf den X-Achsen ist die intrazelluläre Konzentration von IFN- γ , auf den Y-Achsen die von IL-17 aufgetragen. Die Kreuz-Regulation zwischen Th-17- und Th-1-Zellen ist von IL-6 abhängig.

Eine Blockade des IL-6 Rezeptors durch Antikörperbehandlung (anti-IL-6R) veranschaulichte, dass IL-6 ein wichtiger Förderer der Th-17-Differenzierung ist. Es resultierten eingeschränkte Th-17-Differenzierungen bei Wild-Typ- und IFN- γ ^{-/-} CD4⁺T-Zellen (grün).

Des Weiteren zeigten IL-17^{-/-} CD4⁺T-Zellen eine stärkere Expansion und Differenzierung zu IFN- γ -produzierenden T-Zellen als Wild-Typ-CD4⁺T-Zellen. Eine zusätzliche Blockade des IL-6R erleichterte diesen Umstand zunehmend (rot).

Ob der gegenteilige Effekt für IL-17 zutrifft, gilt als umstritten (68). In einem Modell der experimentellen Kolitis wurde gezeigt, dass IL-17 eine Inhibition von pathogenen Th-1-Zellen hervorrief und auf diese Weise eine protektive Funktion einnahm (87, 235). Mithilfe eines gut etablierten Maus-Transfer-Modells der Kolitis wurde anhand verschiedener in vivo und in vitro Versuche demonstriert, dass IL-17 eine modulierende Rolle in der Th-1-Differenzierung ausüben könnte, indem es die Expression Th-1-assoziiierter Faktoren effektiv senkte, einschließlich des T-bet, IFN- γ und IL-12R β 2 (Abb. 16) (156). Erstaunlicherweise versagte IL-17A in einer Senkung der T-bet-Expression bei bereits vollständig differenzierten Th-1-Kulturen mit robuster T-bet-Expression (156). Dementsprechend scheint die inhibierende Wirkung des IL-17 in Abhängigkeit zum Spezialisierungsstadium der Th-1-Zellen aufzutreten und ist besonders während der Frühphase wichtig, wenn eine stetige Hochregulation von T-bet stattfindet (156).

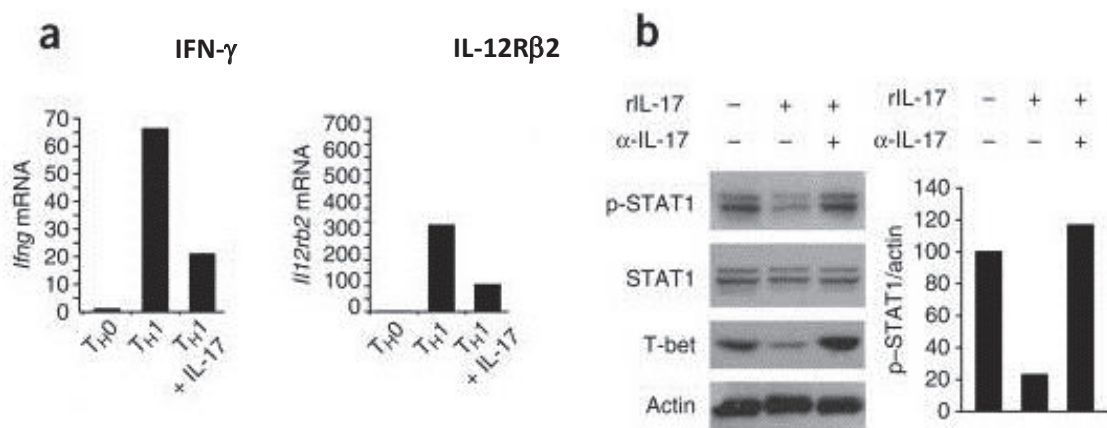


Abb. 16: Der IL-17A-Signalweg unterdrückt die Th-1-Differenzierung in einem Modell der experimentellen Kolitis, modifiziert nach (156).

(a) Aus einer Behandlung mit IL-17 resultierte eine stark verringerte Expression von Th-1-assoziierten mRNA Transkripten, wie IFN- γ und IL12r β 2.

(b) Die Zugabe von rekombinantem IL-17 (rIL-17) führte zu einer 78 % verringerten Menge von phosphoryliertem STAT1. Die Zugabe von neutralisierenden Antikörpern gegen IL-17 (α -IL-17) kehrte die IL-17-vermittelte Suppression von phosphoryliertem STAT1 vollständig um (links). Gleichzeitig wiesen IL-17-haltige Kulturen eine eingeschränkte Expression von T-bet auf, die ebenfalls durch Zugabe neutralisierender Antikörper aufgehoben werden konnte (rechts).

Nach älteren Daten könnte IL-17 sowohl direkte als auch indirekte Wege nutzen, um das Differenzierungsprogramm von Th-1-Zellen einzuschränken (143, 211). Es wurde deutlich, dass IL-17 eine negative regulatorische Rolle im Rahmen einer vorherrschenden IL-12R β 2-Expression einnahm, die sich in einer verringerten Reaktionsbereitschaft auf IL-12 bemerkbar machte (211). Hierbei fungierte IL-17 in einer Erniedrigung der IL-12-induzierten IFN- γ -Expression in mononuklearen Zellen des peripheren Blutes und sich entwickelnden Th-1-Zellen, die in Assoziation mit einer selektiven Reduktion von IL-12R β 2 auftrat (211). Andere spekulierten über eine indirekte Wirkungsweise, in der IL-17 die Funktionalität von Antigen-präsentierenden Zellen und ihre Interaktion zu T-Zellen moduliert, um eine Reduktion der IL-12-vermittelten Th-1-Differenzierung herbeizuführen (143).

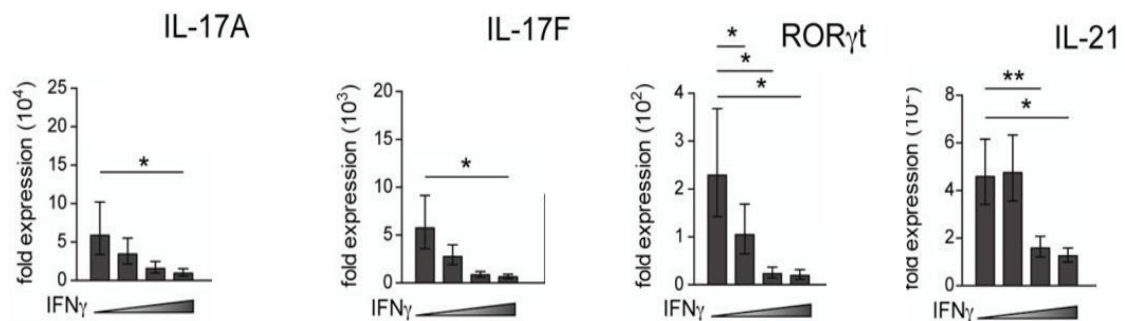


Abb. 17: Repressive Wirkung des IFN- γ auf Th-17-typische-Signaturgene, verändert nach (243).

Naive T-Zellen wurden von Wild-Typ Mäusen isoliert und unter Th-17-polarisierenden Bedingungen in der Gegenwart „irradiated feeder cells“ für 5 Tage stimuliert. Die T-Zellen wurden vor der Analyse mit PMA und Ionomycin restimuliert. Die Kulturen enthielten variierende Konzentrationen von IFN- γ : 1) 10 μ g/ml anti-IFN- γ mAb, 2) kein anti-IFN- γ mAb 3) 100 U/ml IFN- γ und 4) 1000 U/ml IFN- γ . Anschließend wurde eine Real-time PCR an den lebenden CD4+T-Zellen durchgeführt.

Die exogene Zufuhr von IFN- γ zu Wild-Typ CD4+T-Zellen, die unter Th-17-polarisierenden Konditionen aktiviert wurden, resultierte in einer deutlichen dosisabhängigen Reduktion der Expression von IL-17A, IL-17F, IL-21 und ROR- γ t.

Ein weiterer interessanter Einblick bot sich durch die Betrachtung von IL-17-defizienten T-Zellen, die erhöhte Niveaus an IFN- γ -produzierenden Zellen hervorbrachten (68, 143, 156) (siehe auch Abb. 15). Dies könnte ein Indiz dafür liefern, dass IL-17 in spezifischen Versuchsbedingungen über einen limitierenden Effekt gegenüber dem IFN- γ verfügt. Parallel zu diesen Daten existieren weitere Anhaltspunkte, die eine komplexe Beziehung zwischen Th-1- und Th-17-Zellen vermuten lassen (siehe Kapitel 8.2.) (219, 243). Demnach

beschränkte sich das modulierende Potential von IFN- γ nicht nur auf das Expressionsvermögen von IL-17A, sondern trat in Verbindung mit einer umfangreichen Repression Th-17-assoziiierter Moleküle auf, einschließlich IL-17F, IL-21 und ROR- γ t (Abb. 17) (243). Darauf basierend könnte IFN- γ eine global suppressive Wirkung auf die Th-17-Differenzierung ausüben (243).

Somit könnte die Interaktion von IFN- γ und IL-17 auf einem indirekten Mechanismus beruhen, der eine IFN- γ - und IL-17-abhängige Regulation ihrer hauptproduzierenden Th-1- und Th-17-Zellen vorsieht (143, 211). Es wäre denkbar, dass Th-1- und Th-17-Zellen über das Wachstum ihrer eigenen T-Helfer-Zelluntergruppe und die reziproke Inhibition der jeweils anderen Zellpopulation indirekt die Konzentrationen ihrer Effektorzytokine IL-17 und IFN- γ steuern (143, 211, 229). In diesen Zusammenhang wurde berichtet, dass Th-1-Zellen die Fähigkeit besitzen, über IFN- γ das Wachstum anderer T-Zellpopulationen einzuschränken, einschließlich das der Th-2- und Th-17-Zellen (12, 14, 43, 47, 86, 183). Interessanterweise traf ähnliches im Falle der Th-2-Zellen zu, so dass eine umfangreiche wechselseitige Regulation der T-Helfer-Zelluntergruppen in Betracht gezogen wurde (10, 12, 14, 77). Allerdings ist es nach wie vor ungewiss, welches Zytokin aus Sicht der Th-17-Untergruppe eine Inhibition der anderen T-Helfer-Zelluntergruppen hervorruft (229). Neuere Studien gehen davon aus, dass IL-23 diese Rolle einnehmen könnte, indem es eine Inhibition der Expression von T-bet und Foxp3 vermittelt (6, 79, 122, 132). Gaffen et al. berichteten über eine IL-23-abhängige Induktion des Transkriptionsfaktors BLIMP-1, der in Kooperation mit ROR- γ t eine verstärkte Expression von IL-23R und GM-CSF auslöst und gleichzeitig eine Unterdrückung alternativer Zellschicksal-bestimmender Faktoren bedingt, einschließlich Foxp3 und GATA-3 (48).

Um zukünftig eine sichere Therapie von Autoimmunerkrankungen zu gewährleisten, ist es von größter Bedeutung, Kenntnisse über die molekularen Mechanismen der Interaktion von Th-1- und Th-17-Zellen zu erlangen (219). Auf diese Weise könnte man effektiv einer übermäßigen Sekretion ihrer zugehörigen pathogenen Markerzytokine IL-17 und IFN- γ entgegenwirken (247). Bei der Entschlüsselung dieser molekularen Regulationsmechanismen stellen vor allem nachgeschaltete Signale von Transkriptionsfaktoren wichtige Betrachtungspunkte dar. Dementsprechend könnte eine Art der Interaktion von IL-17 und IFN- γ auf die Wirkung ihrer spezifischen STATs oder Masterregulatoren, wie ROR- γ t und T-bet, zurückzuführen sein (101). Solch ein Interaktionsmechanismus scheint vor allem aus der Sicht des IFN- γ plausibel, da es als potenter Aktivator von STAT1 und T-bet gilt (siehe Kapitel 6.).

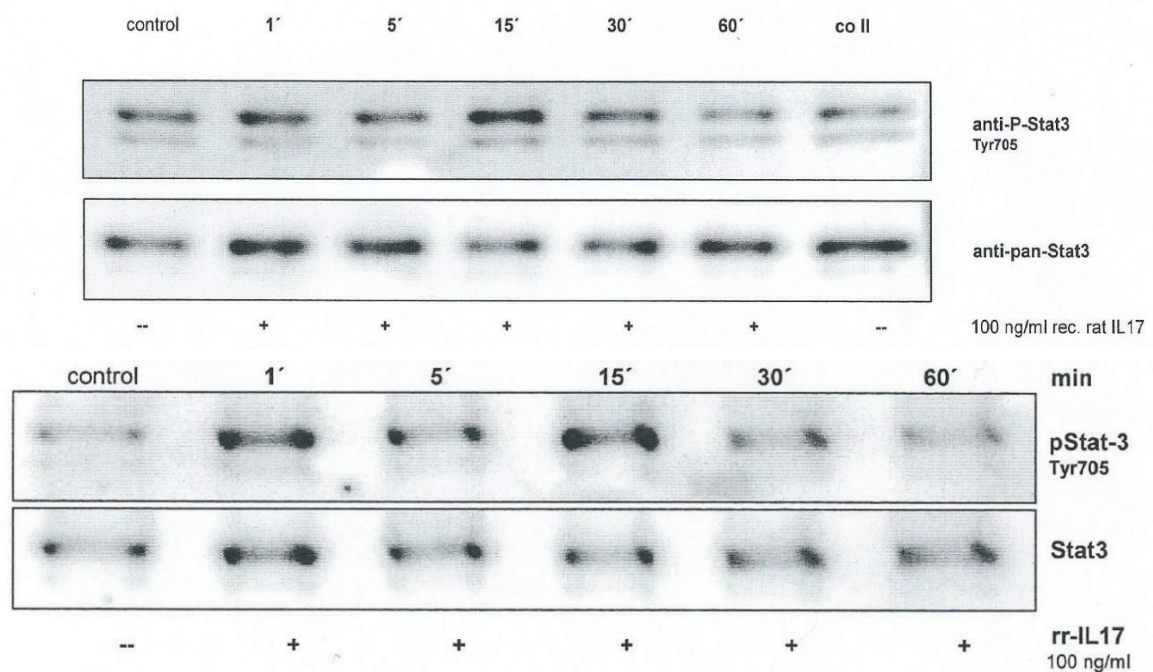


Abb. 18 Western-Blot der Aktivierung von STAT3 nach Zugabe von IL-17 in DRG-Neuronen der Ratte aus einer Versuchsreihe von Anne Hartung aus dem Institut für Physiologie I Jena.

Mit Hilfe eines STAT3-Antikörpers (anti-pan-STAT3) wurde eine Protein-Ladekontrolle durchgeführt. Diese zeigte, dass alle Kulturen von DRG-Neuronen eine Grundaktivität von STAT3 besaßen (oberer Bildteil).

Kulturen von DRG-Neuronen der Ratte wurden zu verschiedenen Zeitpunkten mit 100 ng/ml IL-17 und einem Antikörper für das phosphorylierte STAT3 (anti-P-STAT3 Tyr705) versehen. Alle Kulturen zeigten eine Phosphorylierung von STAT3, wobei eine erhöhte Phosphorylierung von STAT3 nach 15 min der Applikation von IL-17 (markiert durch + in der Zeile „rr-IL17“) zu beobachten war (unterer Bildteil).

Obwohl IL-17 ein großes pathologisches Potential besitzt (135, 164), wurde über keine signifikante Rolle des IL-17 als direkter Aktivator von STAT3 oder dem damit assoziierten ROR- γ t berichtet (Abb. 18). Daraus entnehme ich, dass eine auf IL-17-basierende Interaktion mit IFN- γ auf der Grundlage seines Aktivierungspotentials von STAT3 und ROR- γ t nicht ausgeschlossen, aber unwahrscheinlich ist. Interessanterweise zeigten einige Quellen, dass IL-17 eine vermehrte Expression von IL-6 (12, 14, 87, 94, 124, 258) und IL-1 β (12, 94, 183) bewirkte, die als Th-17-fördernde Faktoren bekannt sind (siehe Kapitel 5.1.). Im Gegensatz zum IL-17 wirkt IL-6 als potenter Aktivator von STAT3 (132, 204) und wichtiger Spezialisierungsfaktor der Th-17-Differenzierung (48, 158). Damit übereinstimmend wurde über eine IL-17-vermittelte positive Rückkopplungsschleife in Astrozyten, Fibroblasten und synovialen Fibroblasten berichtet, die auf einen synergistischen Effekt von IL-6 und IL-17 beruht und eine gesteigerte IL-6-Sekretion zur Folge hat (75, 87, 124, 160).

Diese Synergie konnte in Astrozyten auf verschiedene Signalwege zurückgeführt werden, einschließlich NF- κ B, p38 MAPK und JNK MAPK (124). In diesen Zusammenhang demonstrierten Xiangyu et al, dass IL-17 in Synergie mit IL-6 eine gesteigerte Rekrutierung von aktivierten NF- κ B p65, c-Fos, c-Jun, und den Histon-Acetyltransferasen (HATs) CBP und p300 zu dem IL-6 Promotor bewirkte (Abb. 19). Dieser Prozess wurde von verstärkten H3- und H4-Acetylierungen am IL-6-Promotor begleitet und könnte die vermehrte Zugänglichkeit und Genexpression von IL-6 erklären (124). Unter Berücksichtigung der zuvor erläuterten positiven Rückkopplungsschleife schlussfolgerte ich, dass IL-17 über einen indirekten Mechanismus mit IFN- γ interagieren könnte, indem es die nachgeschalteten STAT3- und ROR- γ t-Wege des IL-6 nutzt. Es bleibt zu beachten, dass diese Effekte nur bei spezifischen Zelltypen zutrafen und auf keinen Fall zu verallgemeinern sind.

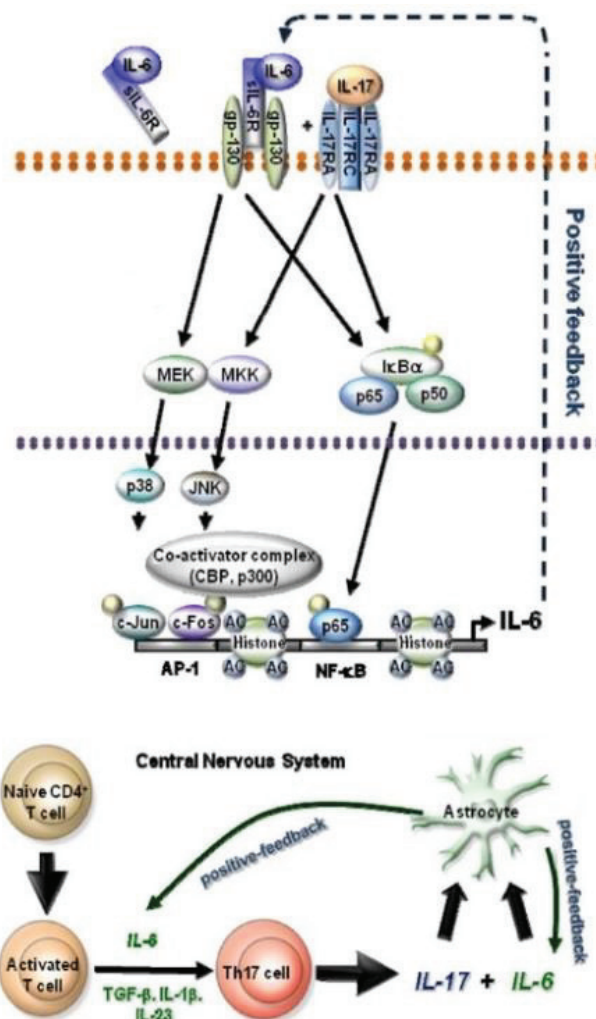


Abb. 19: Schematische Darstellung einer gesteigerten IL-6 Sekretion aus Astrozyten als Folge eines synergistischen Effekts von IL-6 und IL-17 und einer daraus resultierenden positiven Rückkopplungsschleife, modifiziert nach (124). Dargestellt ist die Situation im ZNS, in der Astrozyten mit einer vermehrten Induktion von IL-6 die Differenzierung weiterer IL-17-produzierender T-Zellen einleiten.

Hinweise auf die Existenz einer komplexen Beziehung zwischen IFN- γ und IL-17 lassen sich aus Messungen vom entzündeten und normalen Kniegelenk der Ratte und ihrer Beteiligung an der Entwicklung einer mechanischen Hyperalgesie und nozizeptiven Weiterleitung ableiten. Im normalen Knie bewirkte eine einzelne intraartikuläre Injektion des IL-17-einen dosis-abhängigen Anstieg der Netto-Antwortenrate der Aktionspotentiale von C-Fasern auf noxische mechanische Stimulationen innerhalb von 2 h. Nach einer weiteren intraartikulären Injektion von IFN- γ (nach 2 h) nahm die IL-17-gesteigerte Netto-Antwortenrate innerhalb von 1 h stetig ab. Somit scheinen IL-17 und IFN- γ auch in der

Peripherie über schnelle Interaktionsmechanismen an nozizeptiven Nervenfasern zu verfügen, um einen raschen Anstieg oder Abfall der Antwortenrate zu vermitteln.

Ergänzend zu den Beobachtungen der sukzessiven Injektion von IL-17 und IFN- γ bewirkte eine zeitgleiche Injektion dieser Zytokine einen raschen Abfall der Antwortenrate, ohne dass das IL-17 überhaupt eine Sensibilisierung auslösen konnte (188).

Zusammenfassend ist die Interaktion von IL-17 und IFN- γ ein komplizierter Vorgang, der noch zahlreiche Wissenslücken aufweist (41, 74, 77). Die Wechselwirkung von IFN- γ und IL-17 scheint auf einem indirekten Mechanismus zu beruhen, der eine IFN- γ - und IL-17-abhängige Regulation ihrer hauptproduzierenden-Th-1- und Th-17-Populationen beinhalten könnte (143, 211). Th-1- und Th-17-Zellen könnten über das Wachstum ihrer eigenen T-Helfer-Zelluntergruppe und die reziproke Inhibition der jeweils anderen Zellpopulation indirekt die Konzentrationen ihrer Effektorzytokine IL-17 und IFN- γ steuern (143, 211, 219).

IFN- γ wurde als negativer Regulator von IL-17-produzierenden Th-17-Zellen identifiziert (26, 59, 66, 68, 74, 76, 77, 170, 219, 237, 243). Verschiedene Studien beobachteten bei der Nutzung von IFN- γ -defizienten oder mit Antikörper-behandelten Mäusen erhöhte Konzentrationen von IL-17 und Anzahlen von IL-17-produzierenden T-Zellen (10, 43, 59, 68, 76, 91, 170, 183, 219, 237, 243). Zusätzlich wurde deutlich, dass die exogene Zufuhr von IFN- γ an einer Hemmung der Expression der Th-17-assoziierten Gene Beteiligung fand (243) (Abb. 17). Somit scheint IFN- γ eine global suppressive Wirkung auf die Th-17-Differenzierung auszuüben (243).

Im Gegensatz zum IFN- γ ist das modulierende Potential von IL-17 auf die Th-1-Differenzierung umstritten (68) und nur auf spezifische Versuchsmodelle anwendbar (143, 156, 211). In einem Modell der experimentellen Kolitis wurde gezeigt, dass IL-17 eine Inhibition von pathogenen Th-1-Zellen hervorrief, in dem es die Expression Th-1-assoziiierter Faktoren effektiv senkte (Abb. 16) (156). Andere Quellen berichten über direkte und indirekte Wirkungen des IL-17, um das Differenzierungsprogramm von Th-1-Zellen einzuschränken (143, 211). Hierbei fungierte IL-17 in einer Erniedrigung der IL-12-induzierten IFN- γ Expression in mononukleären Zellen des peripheren Blutes (211), oder

über eine indirekte Wirkungsweise, indem es die Funktionalität von Antigen-präsentierenden Zellen und ihre Interaktion zu T-Zellen modulierte (143).

Obwohl IL-17 in Betracht gezogen wurde, als suppressives Zytokin der Th-17-Untergruppe zu agieren, um eine Inhibition der Th-1-Untergruppe auszuüben (143, 156, 211), ist bis heute nicht eindeutig geklärt, welches Zytokin aus Sicht der Th-17-Untergruppe eine Repression der Th-1-Untergruppe vermittelt. Neuere Studien deuten auf eine wichtige Rolle des IL-23 in diesem Prozess hin (48).

Beim Entschlüsseln der gegenseitigen Regulationsmechanismen von IFN- γ und IL-17 stellen vor allem nachgeschaltete Transkriptionsfaktoren wichtige Betrachtungspunkte dar, wobei der Schwerpunkt auf STAT1, T-bet und STAT3 und ROR- γ t zu legen ist (101).

Obwohl IL-17 keine wichtige Rolle als STAT3-Aktivator besitzt, könnte es über eine positive Rückkopplungsschleife (75, 87, 124, 160) eine Induktion von STAT3-aktivierendem IL-6 vermitteln und somit über einen indirekten Mechanismus mit IFN- γ interagieren, indem es die nachgeschalteten STAT3-(132, 204) und ROR- γ t (48, 74, 78, 94, 179) Signale des IL-6 nutzt.

7.1. Masterregulator-vermittelte Inhibition

Während es nach wie vor ungewiss ist, inwiefern ROR- γ t einen Einfluss auf die Th-17-Untergruppe ausübt, sind sich viele Forscher zunehmend sicher, dass ein molekularer Mechanismus der IFN- γ -vermittelten Hemmung der Th-17-Untergruppe durch die Wirkung ihres linienspezifischen Transkriptionsfaktors T-bet begründet wird (41, 47, 59, 86, 89, 101, 130, 161, 170, 240, 243). IFN- γ bewirkt über die Aktivierung von STAT1 die Expression von T-bet (2, 86, 108, 179, 197, 229, 239), die wiederum eine deutliche Reduktion der Th-17-Antwort verursacht (10, 26, 179). Damit übereinstimmend belegte die forcierte Überexpression von T-bet eine robuste Abnahme der IL-17-Produktion (6, 26, 77, 79, 92, 101, 130, 158, 219). Interessanterweise trat dieser Umstand in Verbindung mit verringerten Konzentrationen von Th-17-assoziierten Zytokinen und ROR- γ t auf (Abb. 20) (77, 92, 101, 179, 219). Dies könnte darauf hindeuten, dass T-bet aktiv die Th-17-Differenzierung und IL-17 Produktion einschränkt (77), indem es die Expression des linienspezifischen Transkriptionsfaktors ROR- γ t unterdrückt (41, 47, 74, 77, 92, 101, 179).

Weitere Untersuchungen unterstützen diese Auffassung zunehmend. Unter der Verwendung transgener T-bet-Expressionssysteme wurde demonstriert, dass eine forcierte Expression von T-bet die Durchsetzung und Aufrechterhaltung des Th-17-Programmes beeinflusst (Abb. 20) (101). Demnach konnte die retrovirale Überexpression von T-bet nicht nur die Th-17-Differenzierung transgener Th-Vorläuferzellen unterbinden, sondern ebenfalls ein bereits etabliertes Th-17-Programm zu Gunsten einer IFN- γ -Produktion umgestalten (101). Hierbei wurde selbst bei voll-differenzierten Th-17-Zellen eine Beeinträchtigung Th-17-assoziiierter Transkripte detektiert, einschließlich Rorc, il17a, il17f, il21 und il23r (101).

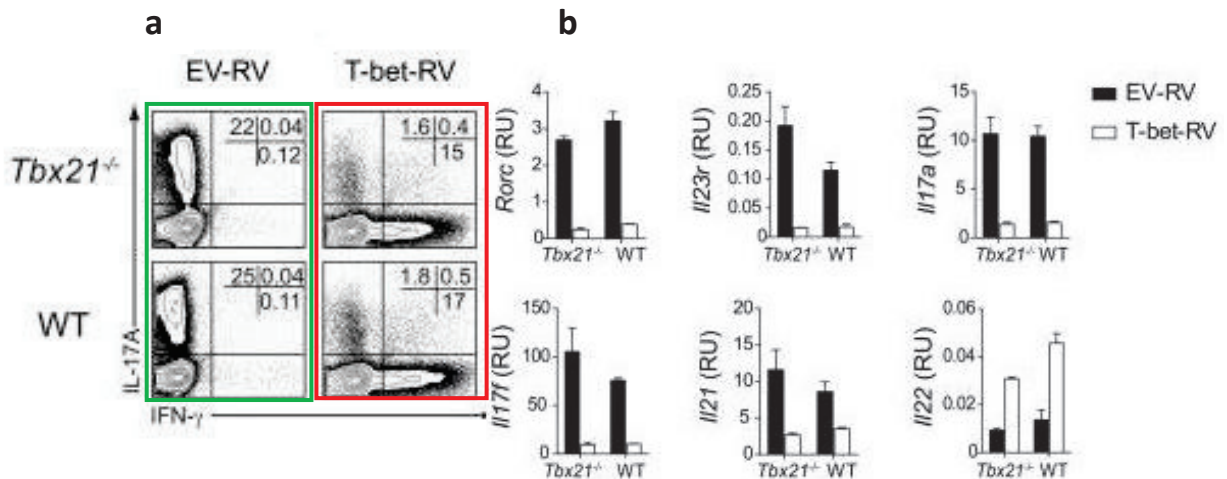


Abb. 20: Expression von T-bet blockiert die Th-17-Differenzierung (101).

(a) Durchflusszytometrie der IL-17- und IFN- γ -Expression in naiven CD4⁺T-Zellen (CD62L^{hi}CD25^{lo}), die unter Th-17-polarisierenden Konditionen für 24h aktiviert und anschließend mit ungeladenen oder T-bet-exprimierenden Retroviren transduziert wurden, unter gleichzeitiger Behandlung mit IFN- γ -neutralisierendem Antikörper (grün).

Eine Transduktion von T-bet in Tbx21-defizienten (T-bet-defizienten) oder Wild-Typ naiven CD4⁺T-Zellen resultierte in einer wesentlichen Verringerung des Prozentsatzes IL-17-produzierender Zellen, die von einer markanten Erhöhung IFN- γ /IL-17A-doppelproduzierender und IFN- γ -einzelproduzierender Zellen begleitet wurde (rot).

(b) Real-time PCR-Analysen der mRNA Expression von Rorc, il17a, il17f, il23r, il21 und il22 in naiven CD4⁺T-Zellen, die unter Th-17-polarisierenden Konditionen kultiviert und anschließend mit ungeladenen und T-bet-exprimierenden Retroviren versetzt wurden.

Aus einer forcierten Expression von T-bet ging eine markante Abnahme von Rorc und Th-17-assoziierten Zielgenen hervor, einschließlich il17a, il17f, il21 und il23r. Demensprechend wurde über die ektopische Expression von T-bet die Differenzierung von T-Helfer-Vorläufern zu Th-17-Zellen durch eine Blockierung der Expression des Th-17-linienspezifischen Transkriptionsfaktors ROR- γ t und ROR- γ t-abgeleiteter Zielgene verhindert.

Parallel zu diesen Beobachtungen ist schon von früheren Studien bekannt, dass T-bet-defiziente Mäuse einen Hyper-Th-17-Phänotyp mit einer übermäßigen IL-17-Produktion ausbildeten (Abb. 21) (26, 41, 59, 77, 101, 130, 170, 204, 219, 240, 243).

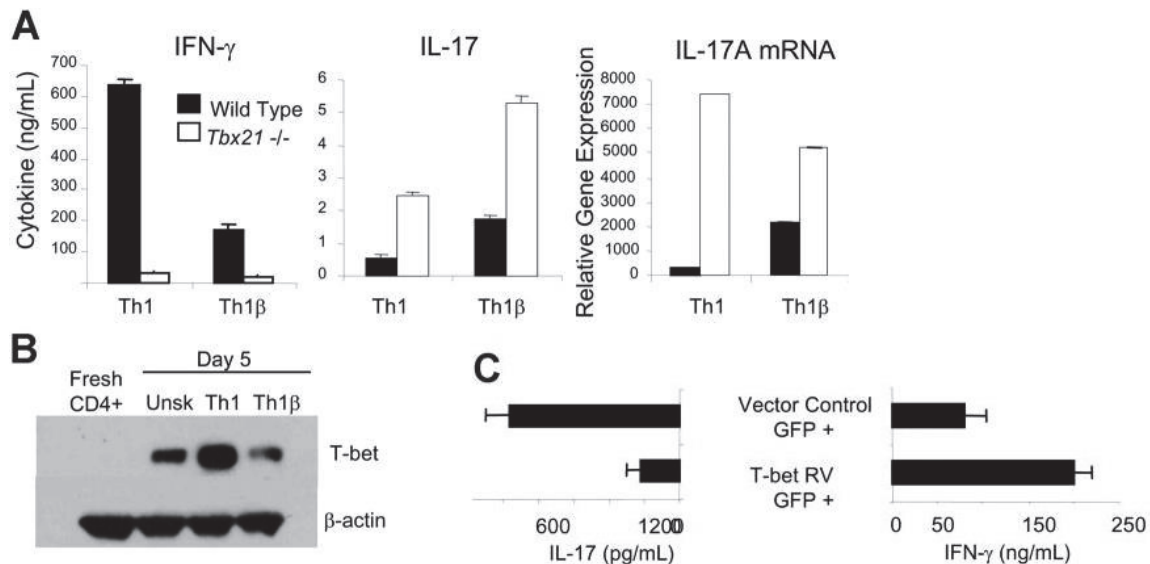


Abb. 21: Nachweis einer negativen Regulation von T-bet auf das Entwicklungsvermögen von Th1 β -Zellen, d.h. IL-23-stimulierten Zellen mit einer charakteristischen IL-17-Sekretion (Th-17), entnommen aus einer Versuchsreihe von (130).

A) Um das inhibierende Potential von T-bet auf die IL-17-Expression in Th-1- und Th-1 β -Kulturen unter Beweis zu stellen, wurden Wild-Typ- und CD4+T-Zellen unter Th-1-(IL-12 + α -IL-4) und Th-1 β (IL-23 + α -IL-4) -Konditionen für 5 Tage differenziert und anschließend analysiert. Hierbei wurde demonstriert, dass T-bet für eine IFN- γ -Sekretion in Th-1- und Th-1 β -Zellen ausschlaggebend war und eine negative Regulation der IL-17-Produktion und seiner mRNA vermittelte. Demnach wiesen *Tbx21*(T-bet)-defiziente Zellen erhöhte Mengen von IL-17 auf, die auch unter Th-1-Konditionen auftraten.

B) Dargestellt ist eine immunblot-Analyse totaler Zellextrakte von frischen CD4+T-Zellen und aktivierten Zellen, die für 5 Tage unter „unskewed“-(α -IL-4), Th-1- oder Th-1 β -Konditionen differenziert wurden. Obwohl alle Kultur-Konditionen im Vergleich zu frischen CD4+T-Zellen erhöhte Expressionen von T-bet erzeugten, exprimierten Th-1 β -Zellen vergleichbare Niveaus von T-bet wie „unskewed“-T-Zellen und deutlich niedrigere Niveaus als Th-1-Zellen.

C) Ektopische Überexpression von T-bet in Form von retroviral exprimiertem T-bet oder EGFP induzierte in Th-1 β -Zellen die IFN- γ -Produktion und verminderte den Spiegel von IL-17 und bildete so ein Zytokinsekretionsmuster aus, das dem von Wild-Typ-Th-1-Zellen gleicht.

Um einen eindeutigen Nachweis einer T-bet-abhängigen Inhibition in Unabhängigkeit von STAT1 zu erbringen, wurden ektopische Überexpressionen von T-bet an STAT1-defizienten Mäusen mit dem Resultat durchgeführt, dass auch diese Tiere verringerte Niveaus von IL-17-produzierenden Th-17-Zellen hervorbrachten (219). Eine andere Studie demonstrierte, dass selbst unter Nutzung T-bet-transgener/IFN- γ -defizienter Mäuse eine forcierte Überexpression von T-bet einen limitierenden Effekt auf die Erzeugung IL-17-

produzierender T-Zellen ausübte (92). Somit wurde eine klare Abgrenzung der modulierenden Wirkung von T-bet zum IFN- γ hergestellt, und gleichzeitig hervorgehoben, dass eine Inhibition der Th-17-Differenzierung in T-bet-transgenen Mäusen nicht auf eine Überproduktion von IFN- γ zurückzuführen ist (92). Demzufolge könnte T-bet einen von IFN- γ (26, 92, 161, 179) und STAT1 (219, 243) unabhängigen Hemm-Mechanismus zur Unterdrückung der Th-17-Untergruppe darstellen.

Bisher wurden nur geringfügige Fortschritte auf dem Gebiet der T-bet-basierenden Th-17-Inhibition gemacht, so dass die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen noch weitestgehend unerforscht sind (26, 41, 74, 161, 219). T-bet ist bekannt dafür, mit einer Vielzahl von Transkriptionsfaktoren in direkte Interaktion zu treten und deren transkriptionelle Aktivität positiv oder negativ zu beeinflussen (159). Hierunter zählen RUNX1 (89, 101, 162, 179), GATA-3 (86, 101, 161, 162, 219), NFATc2 (101, 161, 162), NF- κ Bp65 (161, 162), RUNX3 (161, 233) und Bcl6 (159, 161). Auf diese Weise bewirkt T-bet eine Feinabstimmung der verschiedenen T-Helfer-Untergruppen (161). Dennoch konnte im Falle des ROR- γ t nur eine schwache Wechselwirkung mit T-bet festgestellt werden (219). Weitere Untersuchungen demonstrierten, dass T-bet unfähig ist, am Promotor des ROR- γ t zu binden (101, 219). Demnach scheint seine hemmende Aktivität vielmehr auf einem indirekten Mechanismus zu beruhen, der eine Einschränkung anderer essentieller Th-17-fördernder Transkriptionsfaktoren implizieren könnte (219).

Damit übereinstimmend, berichtete eine Quelle über eine Interaktion von T-bet und RUNX1 (101), einem wichtigen Co-Faktor der Th-17-Differenzierung (12, 66, 251). RUNX1 besitzt eine Bindungsstelle am Promotor des ROR- γ t (101, 179, 251) und kann dessen gesteigerte Expression einleiten (12, 89, 233). Gleichzeitig besitzt RUNX1 die Fähigkeit, einen Komplex mit ROR- γ t zu formen (89, 233), der die Transkription von IL-17 entscheidend reguliert (89, 96, 233, 251). Hierbei fungiert es nicht nur als direkter Stimulator des IL-17A-Promotors (66, 96, 233), sondern ebenso als wichtiger Verstärkungsmechanismus der Transkription, indem es hierfür relevante Enhancer-Regionen besetzt (96, 233, 251). Aus einer Interaktion von T-bet und RUNX1 resultierte eine blockierte RUNX1-vermittelte Transaktivierung von dem Rorc-Promotor in einer dosisabhängigen Weise (Abb. 22) (101). Daraus wurde geschlossen, dass ein

Mechanismus der T-bet-abhängigen-ROR- γ t-Inhibition (Abb. 22) auf eine eingeschränkte Funktion des RUNX1 zurückzuführen sein könnte (101). Dennoch wurde darauf aufmerksam gemacht, dass das Bindungspotential von T-bet und RUNX1 bei Weitem nicht ausreichend ist, um das vollständige Ausmaß der Inhibition von RUNX1 zu erklären. Es muss andere Wege und Mechanismen geben, mit denen T-bet RUNX1 unterdrückt (101), sowie weitere kritische Wechselwirkungen von T-bet mit anderen Elementen der Th-17-Differenzierung (219).

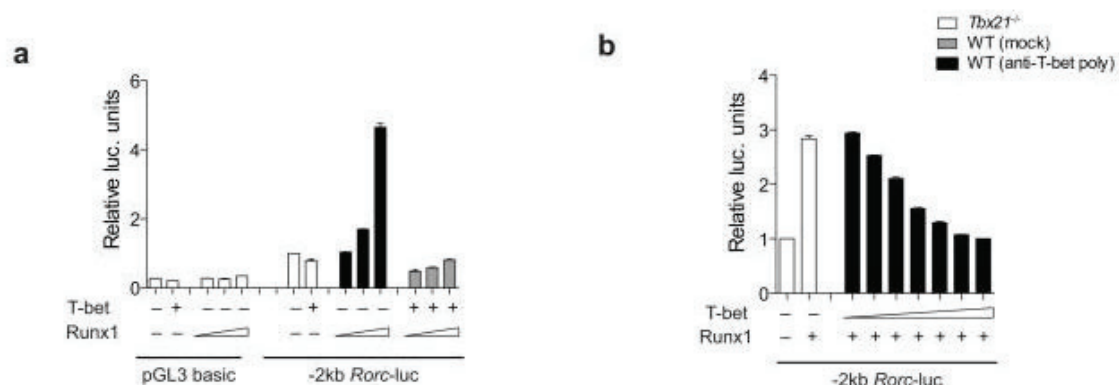


Abb. 22: T-bet blockiert eine Runx1-vermittelte Transaktivierung des Rorc-Promotor, modifiziert aus (101).

(a) RORC-Reporterplasmid wurde aus einem 2 kb-Fragment eines Maus-spezifischen Rorc-Promotor konstruiert. Nachfolgend wurden HEK293-Zellen mit einem 2kb RORC-luc-Reporterkonstrukt oder leeren pGL3-Basisplasmid in Kombination mit steigenden Konzentrationen von RUNX1 transfiziert, in der jeweiligen Gegenwart oder Abwesenheit von T-bet. Die RUNX1 Expression erhöhte die Luciferase-Aktivität in einer dosisabhängigen Weise, was durch die Co-Expression von T-bet blockiert wurde.

(b) HEK293-Zellen wurden mit RORC-luc-Reporterkonstrukt transfiziert und die transkriptionelle Aktivität von Runx1 in der Anwesenheit oder Abwesenheit von steigenden Konzentrationen des T-bet dargestellt. T-bet blockierte eine RUNX1-vermittelte Transaktivierung des Rorc-Promotors in einer Dosis-abhängigen Weise.

Ein weiteres Rätsel verbirgt sich hinter der Wirkung von ROR- γ t und seiner Stellung in einer gegenseitigen Regulation der T-Helfer-Zelluntergruppen. In einem vor kurzem veröffentlichten Bericht äußerten sich Park und Pan über eine von ROR- γ t ausgehende Hemmung der Foxp3-Expression in menschlichen T-Zellen (169). Demzufolge war es ROR- γ t möglich, eine reduzierte Differenzierung von Treg-Zellen auszulösen. Allerdings blieb dieser Effekt in Maus-spezifischen T-Zellen aus (169). Dies lässt die Hypothese zu, dass

ROR- γ t weitere Einflüsse auf andere Transkriptionsfaktoren und T-Helfer-Zelluntergruppen ausüben könnte, einschließlich der Th-1-Untergruppe und T-bet.

Weiterhin wurde aus der differenziellen Betrachtung von menschlichen und Maus-spezifischen T-Zellen ersichtlich, dass sich die Wirkungsweise von ROR- γ t zwischen dem Menschen und der Maus unterscheidet, und nicht alle Ergebnisse aus Maus-spezifischen Modellen als in gleicher Weise für den Menschen zutreffend betrachtet werden sollten. Somit bedarf es weiterer Forschung, um den Sachverhalt in seiner Gesamtheit darzustellen.

Zusammenfassend zeigte sich, dass ein molekularer Mechanismus der IFN- γ -vermittelten Inhibition der Th-17-Differenzierung auf die Wirkung des Masterregulators T-bet zurückzuführen ist (41, 47, 59, 86, 89, 101, 130, 161, 170, 237, 243). Es wurde deutlich, dass IFN- γ über die Aktivierung von STAT1 und Expression von T-bet (2, 86, 108, 179, 197, 229, 239) eine deutliche Reduktion der Th-17-Antworten bewirkte (10, 26, 179). Die hemmenden Wirkungen von T-bet beschränkten sich hierbei nicht nur auf die IL-17-Produktion (6, 26, 77, 79, 92, 101, 130, 158, 219), sondern betrafen ebenfalls die Expression von Th-17-assoziierten Zytokinen und ROR- γ t (Abb. 20) (77, 92, 101, 179, 219). Somit scheint T-bet aktiv die IL-17-Produktion und Th-17-Differenzierung (77) über eine verminderte Expression des Masterregulators der Th-17-Differenzierung ROR- γ t einzuschränken (41, 47, 74, 77, 92, 101, 179).

Es wurde nachgewiesen, dass die inhibierenden Effekte von T-bet unabhängig von STAT1 (219) und IFN- γ (92) auftraten.

Bisher wurden nur geringfügige Fortschritte auf dem Gebiet der T-bet-basierenden Th-17-Inhibition gemacht, so dass die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen nach wie vor ungeklärt sind (26, 41, 74, 161, 219).

T-bet war weder im Stande, am ROR- γ t Promotor zu binden (101, 219), noch in direkte Assoziation mit dem ROR- γ t zu treten (219). Allerdings wurde deutlich, dass T-bet zu einer Interaktion mit dem Th-17-fördernden Transkriptionsfaktor RUNX1 fähig war und auf diese Weise eine Inhibition der RUNX1-vermittelten Transaktivierung des Rorc-Promotors bewirkte (Abb. 22) (101). Dennoch war das Bindungspotential von T-bet und RUNX1 bei Weitem nicht ausreichend, um das vollständige Ausmaß der Hemmung von RUNX1 zu

erklären. Demzufolge muss es andere Wege und Mechanismen geben, mit denen T-bet RUNX1 unterdrückt (101), sowie weitere kritische Wechselwirkungen von T-bet mit anderen Elementen der Th-17-Differenzierung (219).

Über die regulatorische Funktion von ROR- γ t und seiner Rolle in einer Unterdrückung anderer T-Helfer-Zelluntergruppen und Masterregulatoren ist wenig bekannt. Dass ROR- γ t inhibierendes Potential besitzt, ging aus einer neuen Studie hervor, die über eine ROR- γ t-angetriebene Hemmung der Foxp3-Expression in menschlichen T-Zellen berichtete (169). Zukünftige Studien werden zeigen, ob ROR- γ t vergleichbare Effekte auf Th-1-Zellen ausübt wie T-bet auf Th-17-Zellen, und ob ROR- γ t über regulatorische Wechselwirkungen mit Elementen der Th-1-Differenzierung verfügt.

7.2. STAT-vermittelte Interaktion

Neben der zuvor erläuterten Interaktion von linienspezifischen Transkriptionsfaktoren könnte ein weiterer Interaktionsmechanismus von IL-17 und IFN- γ auf der Grundlage ihrer spezifischen STAT-Wege basieren. Es existieren mehrere aussagekräftige Argumente, die eine solche Interaktion als plausibel erscheinen lassen. STATs gelten als wichtige Vermittler und Förderer in den Differenzierungsprozessen von T-Helfer-Zellen (18, 215), einschließlich Th-1-, Th-2-, Th-17-Zellen und Treg-Zellen (14, 26, 43, 86, 94, 257). Sie werden aufgrund spezifischer äußerer Stimuli durch Zytokinsignale aktiviert und bewirken in mehrfacher Hinsicht die Einstellung eines einzigartigen T-Helfer-Zellschicksals (18, 215). Damit ermöglichen STAT1 und STAT3 nicht nur die Induktion der weiteren Differenzierungsfaktoren T-bet und ROR- γ t, sondern fungierten ebenfalls als direkte Induktoren von Th-1- und Th-17-fördernden Faktoren (120, 158). Interessanterweise wurde des Weiteren berichtet, dass STAT3 einen inhibitorischen Effekt auf das Expressionsvermögen von Foxp3 besitzt (15, 99, 158, 236, 257).

Basierend auf dieser STAT3-abhängigen Hemmung der Treg-Untergruppe (48, 257) schlussfolgere ich, dass STATs ebenfalls wichtige Funktionen innerhalb einer Abgrenzung und Hemmung zu anderen T-Helfer-Zelluntergruppen besitzen könnten. Ergänzend dazu ist schon von anderen T-Helfer-Zelluntergruppen ein ausgeprägter Antagonismus ihrer spezifischen STATs bekannt. In diesen Kontext wurde von dem IL-2-induzierten STAT5 berichtet, direkt mit STAT3 um den Promotor des IL-17A zu konkurrieren und dessen Inaktivierung nach sich ziehen (41, 77, 96, 100, 195, 219, 238). Somit scheinen STATs auch ein direktes Repressor-Potential zu besitzen (100).

Abgesehen von diesen Aspekten werden STATs als wichtige regulatorische Faktoren in der Gestaltung einer spezifischen Enhancer-Landschaft angesehen (215). Demnach scheinen sie einen großen Einfluss auf den Erwerb linienspezifischer Enhancer und auf die Unterdrückung von Enhancern alternativer Zellschicksale auszuüben (215). Damit übereinstimmend wurde berichtet, dass die Mehrzahl von Enhancer-Regionen in Th-1-, Th-2- und Th-17-Zellen STAT-abhängiger Natur sind und direkte Ziele dieser Transkriptionsfaktoren darstellen (18). Enhancer-Regionen sind nicht-kodierende DNA-Sequenzen in distaler Nähe von Genpromotoren (18), die eine transkriptionelle

Verstärkung und Aktivierung ihrer zugehörigen Zielgene einleiten (18, 63) und die potente Wirkung von Masterregulatoren überwachen (215). Es gilt hervorzuheben, dass die aktiven Enhancer-Regionen von verschiedenen T-Helfer-Schicksalen einer großen Spezifität unterlagen (215) und unter den vielen regulatorischen Elementen Enhancer eine wesentliche Rolle in der zellspezifischen Genexpression einnehmen (18, 63, 215). Diese steht bekanntermaßen in direktem Zusammenhang mit einer linienspezifischen Spezifikation (63).

Unter der Berücksichtigung des zuvor erläuterten regulatorischen Potentials von STATs stelle ich die Hypothese auf, dass über eine Einschränkung ihrer vielfältigen Funktionalitäten in der Aktivierung und Verstärkung von Genen eine effektive Unterdrückung anderer T-Helfer-Zelluntergruppen möglich wäre, im Spezifischen für den hier dargelegten Fall von STAT1 und STAT3, sowie ihrer zugehörigen IL-17-produzierenden Th-17- und IFN- γ -produzierenden Th-1-Populationen.

Bedeutung von IFN- γ und STAT1

STAT1-defiziente Zellen brachten einen Hyper-Th-17-Phänotyp mit erhöhter Anzahl an IL-17-produzierenden Zellen hervor (25, 59, 204, 219), so dass manche Quellen auf ein negatives regulatorisches Potential von STAT1 schlussfolgerten (26, 66). Allerdings ist ein solches Urteil mit genügender Vorsicht zu betrachten, da eine STAT1-abhängige Inhibition der Th-17-Untergruppe ebenso auf das Induktionsvermögen von T-bet zurückzuführen sein könnte (25, 108), von dem bekannt ist, eine Th-17-limitierende Wirkung auszuüben (101, 130, 170). Es ist nicht auszuschließen, dass T-bet seinen modulierenden Einfluss der Th-17-Untergruppe über eine positive Rückkopplung von STAT1 vermittelt (219). Daher ist es von größtem Interesse, den Nachweis einer STAT1-abhängigen Inhibition in Unabhängigkeit von T-bet darzustellen und umgekehrt. Es gelang anhand verschiedener in vivo- und in vitro-Modelle von STAT1- und T-bet-defizienten Zellen, diese Unabhängigkeit gleich in mehrfacher Hinsicht nachzuweisen (219). Ein direkter Vergleich STAT1- und T-bet-defizienter T-Zellen verdeutlichte in vivo, dass verschiedene Stärken der Hemmung existieren und sich in Form von unterschiedlich großen Populationen IL-17-produzierender Th-17-Zellen bemerkbar machten (219). Demnach wiesen T-bet-defiziente Zellen höhere IL-17-Produktionen als ihre STAT1-defizienten Gegenstücke auf (Abb. 23). Ähnliche

Tendenzen wurden im in vitro-Priming beobachtet, wo die Produktion von Th-17-assoziierten Zytokinen höher in T-bet-defizienten als in STAT1-defizienten T-Zellen ausfiel (219).

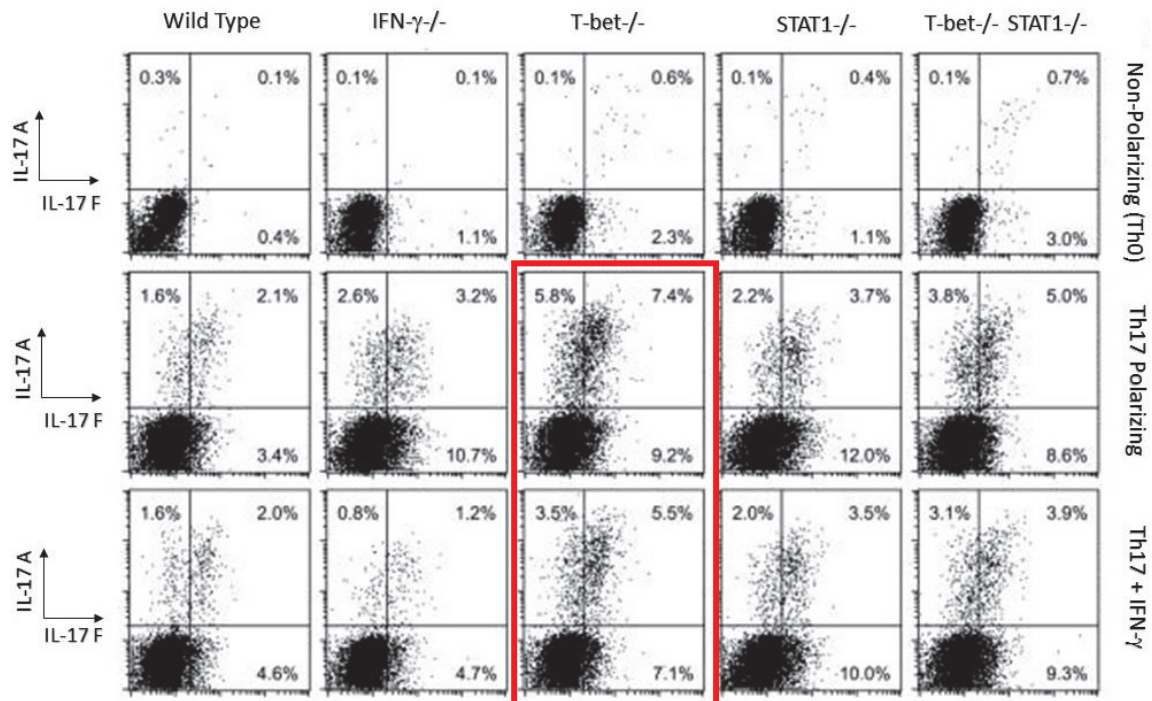


Abb. 23: Verlust der suppressiven Wirkung von IFN- γ bei STAT1-Defizit, modifiziert nach einer Versuchsreihe von (219).

CD4⁺T-Zellen wurden von Wild-Typ-, IFN- γ -defizienten, T-bet-defizienten und STAT1-defizienten Mäusen entnommen und aufbereitet. Diese wurden anschließend unter nicht-polarisierenden und Th-17-polarisierenden Bedingungen für 72h kultiviert und in einem Prozentsatz Zytokin-positiver Zellen (CD4⁺) dargestellt.

Um die Nutzung eines gemeinsamen Hemmungsweges zu hinterfragen, wurden zusätzlich Doppel-defiziente Zellen (T-bet/STAT1-/-) verwendet, wobei kein adaptiver Effekt einsetzte. Die Doppel-defizienten Zellen zeigten überraschenderweise vergleichbare Muster wie STAT1-defiziente Zellen.

Die Abbildung zeigt, dass unter Th-17-konditionierten Bedingungen T-bet-defiziente T-Zellen nach einer weiteren Zugabe von IFN- γ reduzierte IL-17A- und IL-17F-Produktionen aufwiesen.

Es gilt hervorzuheben, dass trotz eines vorherrschenden T-bet-Defizits die weitere Zugabe von IFN- γ einen reduzierenden Effekt auf die IL-17A- und IL-17F-Produktion ausübte (Abb. 23) (219, 243). Dieser Umstand untermauert abermals die Existenz eines weiteren Inhibitionsweges, der unabhängig zum T-bet auftritt. Weiterhin trat die modulierende

Wirkung von IFN- γ in direkter Abhängigkeit zum STAT1 auf, so dass IFN- γ in STAT1-defizienten Zellen nicht in der Lage war, eine Unterdrückung der IL-17-Produktion und Th-17-assoziiierter Transkripte zu vermitteln (Abb. 23) (219, 243). Somit ist STAT1 eine zentrale Rolle in diesen Prozessen einzuräumen (219).

Um auch den Nachweis einer T-bet-abhängigen Hemmung unabhängig von STAT1 zu veranschaulichen, wurden in STAT1- und T-bet-defizienten T-Zellen, die gleichzeitig einer Behandlung mit IFN- γ -neutralisierenden Antikörpern unterzogen wurden, retrovirale Gen-Transduktionen für eine Überexpression von ROR- γ t und T-bet vorgenommen (219). Die durch ROR- γ t-induzierten IL-17-Produktionen konnten in beiden defizienten Zellpopulationen durch von außen zugeführtes T-bet verringert werden (219). Dieser Befund trat auch in STAT1-defizienten Zellen auf, was auf den unabhängigen Stellenwert von T-bet hinweist (219). Bemerkenswerterweise setzte eine zusätzliche Hemmung der IL-17-Produktion bei T-bet-defizienten T-Zellen mit retroviralen Überexpressionen von T-bet ein, sobald ein Entzug der IFN- γ -neutralisierenden Antikörper stattfand (219). Es gilt hervorzuheben, dass diese Beobachtung nicht bei STAT1-defizienten Zellen festgestellt wurde. Damit wurde die steuernde Funktion von T-bet-unabhängigen Mechanismen noch einmal untermauert.

Zusammengenommen demonstrierten diese Ergebnisse, dass zwei differenzielle Hemm-Mechanismen zur Unterdrückung der Th-17-Untergruppe vorherrschen, die sich in vielerlei Hinsicht kooperativ unterstützten, um eine effektive Dämpfung der Th-17-Antwort herbeizuführen: 1. eine STAT1-abhängige Hemm-Maschinerie und 2. eine T-bet-abhängige Hemm-Maschinerie (219). In Anlehnung an die hier ausgeführten Daten belegte eine weitere Arbeit, dass diese zwei voneinander unabhängigen Hemm-Mechanismen tatsächlich existieren (243). Sie erweiterte die bisherigen Kenntnisse, indem sie versuchte, eine genauere Einteilung der Th-17-assoziierten Gene vorzunehmen, die durch eine STAT1- oder T-bet-abhängige Weise unterdrückt werden. Demzufolge scheint im Spezifischen eine Reduktion von ROR- γ t auf dem limitierenden Potential von T-bet zu beruhen (86, 101, 243), wobei STAT1 auch unabhängig von T-bet eine Unterdrückung von IL-17A und IL-17F einleiten könnte (siehe Abb. 24) (243).

Trotzdem sollte berücksichtigt werden, dass nach wie vor die Möglichkeit besteht, dass STAT1 und T-bet kooperativ agieren und ineinander übergreifende Mechanismen zur Begrenzung der Th-17-Differenzierung ausbilden (219).

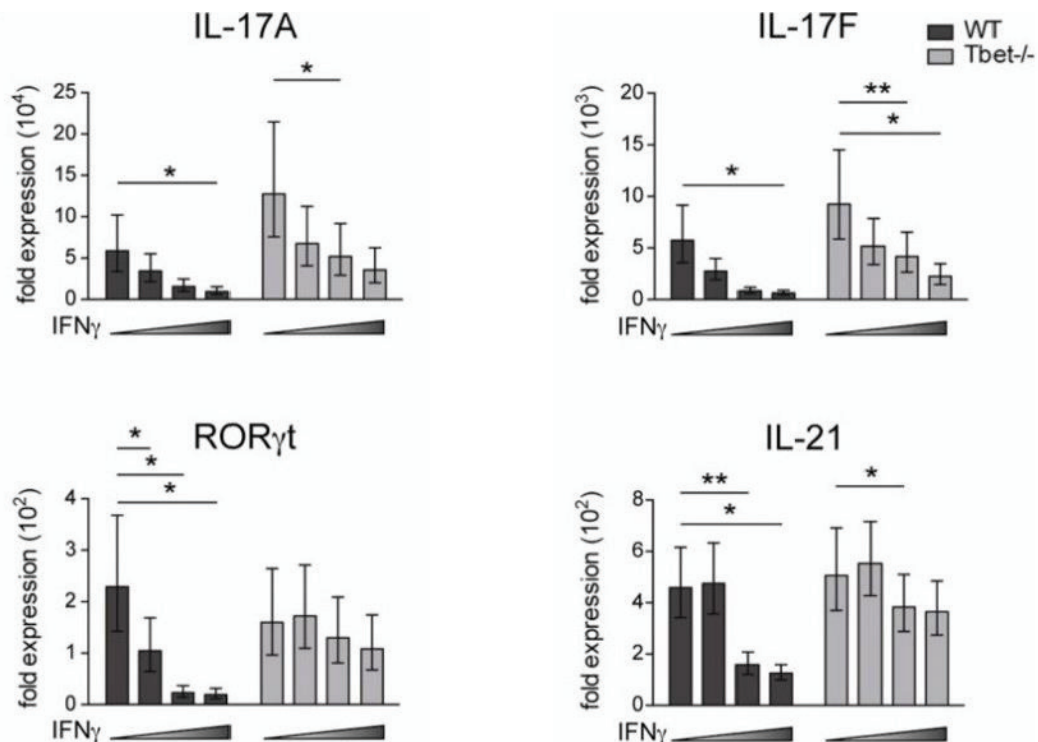


Abb. 24: IFN- γ vermittelte Hemmung der IL-17A- und IL-17F-Produktion in Unabhängigkeit von T-bet, aus einer Arbeit von (243).

Naive T-Zellen wurden von Wild-Typ- und T-bet-defizienten Mäusen isoliert und unter Th-17-polarisierenden Bedingungen in der Gegenwart „irradiated feeder cells“ für 5 Tage stimuliert. Die T-Zellen wurden vor einer Analyse mit PMA und Ionomycin restimuliert. Die Kulturen enthielten variierende Konzentrationen von IFN- γ : 1) 10 μ g/ml anti-IFN- γ mAb, 2) kein anti-IFN- γ mAb 3) 100 U/ml IFN- γ und 4) 1000 U/ml IFN- γ .

Zu beobachten ist eine signifikante Abnahme von IL-17A und IL-17F nach einer Stimulation mit IFN- γ in T-bet-defizienten CD4+T-Zellen. Im Gegensatz zum IL-17A und IL-17F war die Wirkung von IFN- γ auf das Expressionsvermögen von ROR γ t und IL-21 von einer Expression von T-bet abhängig, was als insignifikante Verminderung dieser Gen-Expressionen den unteren Diagrammen zu erkennen ist. Dies trat als Folge einer Zugabe von IFN- γ zu T-bet-defizienten CD4+T-Zellen ein.

Andere STAT1-aktivierende Zytokine

Interessanterweise wurden vergleichbare Tendenzen bei dem STAT1-aktivierenden IL-27 beobachtet, das dem IFN- γ in vielen Belangen ähnelt. Demnach zieht auch IL-27 eine markante STAT1-Aktivierung, Induktion von T-bet (83, 165, 166, 167, 208), sowie Inhibition

der Th-17-Differenzierung und IL-17 Sekretion nach sich (11, 40, 114, 149, 204, 219). Beim Ergründen der hierfür verantwortlichen Inhibitionsmechanismen entdeckten viele Forscher, dass eine auf IL-27-basierende Limitierung der Th-17-Untergruppe durch ein initiiertes STAT1-Defizit aufgehoben wurde und somit wie IFN- γ in unmittelbarer Abhängigkeit zum STAT1 auftrat (Abb. 25) (11, 40, 149). Es bleibt zu erwähnen, dass hierbei nicht der Stellenwert von T-bet berücksichtigt wurde. Zusätzliche Untersuchungen belegten, dass auch dieser STAT-abhängige Inhibitionsmechanismus von IL-27 unabhängig von der suppressiven Aktivität von T-bet war (Abb. 25) (204, 219).

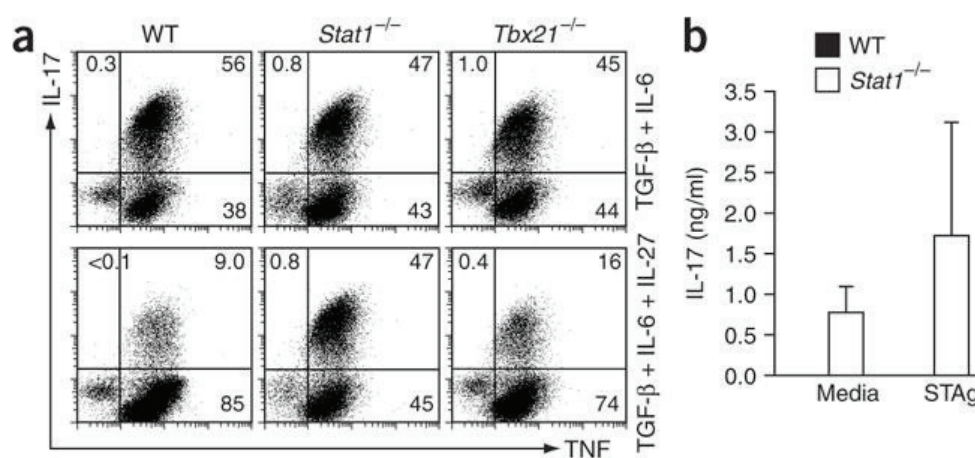


Abb. 25: Nachweis einer IL-27 vermittelten Unterdrückung der IL-17-Produktion in T-Zellen, in Abhängigkeit von STAT1 und Unabhängigkeit von T-bet, aus einer Arbeit von (204).

(a) Um den Nachweis einer STAT1-abhängigen Hemmung der IL-17-Produktion zu erbringen, wurden CD4⁺T-Zellen von CD57BL/6, STAT1-defizienten und Tbx21 (T-bet)-defizienten Mäusen isoliert und mit anti-CD3 und anti-CD28 unter Th-17-induzierenden Konditionen in der Anwesenheit oder Abwesenheit von IL-27 aktiviert. Die Zugabe von IL-27 führte zu einer deutlichen Repression der IL-17-Produktion in Wild-Typ- und T-bet-defizienten CD4⁺ T-Zellen. Diese Wirkung wurde in einer Abwesenheit von STAT1 aufgehoben. Diese Daten identifizierten eine dominante Rolle von STAT1 bei einer Einschränkung der Th-17-Funktionen durch IL-27.

(b) ELISA der IL-17-Produktion von Überständen isolierter Splenozyten aus C57BL/6 Mäusen oder STAT1-defizienter Mäuse nach einer intraperitonealen Infektion mit *T. gondii*. Die Restimulation von Milzzellen mit löslichem Toxoplasma-Antigen am Tag 7 nach der Infektion zeigte, dass STAT1-defiziente Splenozyten mehr IL-17 als ihre Wild-Typ-Gegenstücke sezernierten.

Weitere Untersuchungen demonstrierten, dass IL-27 wie IFN- γ nur in Gegenwart von STAT1 für eine Reduktion von Th-17-verwandten Transkripten in Maus- und Mensch-spezifischen T-Zellen ausschlaggebend war (40, 114, 219), so dass eine signifikante Verringerung der spezifischen mRNA von Rorc (in der Maus Ror- γ t), Il-17a, il-17f und il22 einsetzte (114, 219).

Eine andere Studie untermauerte den wichtigen Stellenwert von STAT1 in einer Differenzierung zu Th-1-Zellen und einer Abgrenzung zur Th-17-Untergruppe, indem sie die Aktivierung von nachgeschalteten Faktoren des IL-27 untersuchte (175). IL-27 ist bekannt dafür, über STAT1 und STAT3 zu signalisieren (38, 40), wobei das Verhältnis zu Gunsten des STAT1 ausfällt (175). Es wurde deutlich, dass IL-27 eine ausreichende Menge von phosphoryliertem STAT3 induziert, um eine Th-17-Differenzierung in einer Abwesenheit von STAT1 auszulösen (175). Diese Feststellung ist von besonderem Interesse, da IL-27 normalerweise für eine Differenzierung von IFN- γ -produzierenden Th-1-Zellen ausschlaggebend ist (38, 40, 83, 149, 167, 208). Obwohl mit dieser Studie unter Beweis gestellt wurde, dass STAT1 in einer Abgrenzung zur Th-17-Untergruppe erforderlich ist, konnte nicht dargestellt werden, ob diese Abgrenzung durch STAT1 oder T-bet vermittelt wurde.

Basierend auf den zuvor dargelegten Daten schlussfolgerten Harrington et al und Villarino et al, dass alle STAT1-aktivierenden Zytokine eine einschränkende Wirkung auf die Th-17-Differenzierung und IL-17-Sekretion ausüben könnten (59, 219). Insbesondere STAT1 scheint eine redundante Rolle in der suppressiven Aktivität von IFN- γ zuzukommen, da ein ausgeprägtes STAT1-Defizit alle begrenzenden Effekte der Th-17-Untergruppe und IL-17-Produktion aufhob. Es scheint nicht nur einen unabhängigen Inhibitionsmechanismus zur Unterdrückung der IL-17A- und IL-17F-Sekretion darzustellen, sondern gleichzeitig die hemmende Wirkung von T-bet auf Th-17-fördernde Moleküle wie ROR- γ t zu überwachen, indem es die weitere Induktion von T-bet reguliert (243). Dies lässt die Hypothese zu, dass STAT1 als nötiger Zwischenschritt in einer von IFN- γ angetriebenen Inhibition der Th-17-Differenzierung und davon abgeleiteten IL-17-Produktion angesehen werden könnte. Leider wurden bisher nur spärliche Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen Aufklärung dieser Zytokin-vermittelten STAT1-Hemmung gemacht (66).

STAT1-abhängige Inhibitionsmechanismen

Es wird angenommen, dass STAT1 sowohl direkte als auch indirekte Repressorfunktionen ausüben könnte, um eine Dämpfung der Th-17-Antwort zu vermitteln (219). Somit könnte STAT1 eine direkte Bindung zu linienspezifischen Promotoren oder Enhancer-Regionen Th-

17-typischer Gene aufweisen, die in einer unmittelbaren Veränderung ihrer transkriptionellen Aktivität münden (26, 100, 219).

In Übereinstimmung damit wurde in menschlichen HELA-Zellen demonstriert, dass STAT1 die Möglichkeit einer Bindung stromaufwärts des ROR- γ t- und ROR- α -Genlocus besitzt, ohne dass auf eine regulatorische oder inhibitorische Wirkung hingewiesen wurde. Weiter ist unklar, ob dieser Befund auf primäre T-Zellen übertragbar ist (189).

Auf der anderen Seite könnte STAT1 eine indirekte Repressorfunktion haben, indem es für eine Induktion Th-17-suppressiver Faktoren oder eine Einschränkung Th-17-fördernder Signalwege verantwortlich ist (179, 219). Diese Vorstellung wird unterstützt, da schon seit längeren bekannt ist, dass Zytokine wichtige Vermittler von „Anti-Th-17-Aktivitäten“ sind und für eine Induktion von „Th-17-inhibierenden Faktoren“ ausschlaggebend sein können, einschließlich des T-bet, Ets-1 und Gfi-1 (219). In diesen Zusammenhang wurde berichtet, dass IL-27 das Potential einer STAT1-abhängigen Induktion von SOCS1, SOCS3 und PD-L1 aufweist (27, 67, 114).

Der von STAT1 induzierte programmierte Death Ligand 1 (PD-L1) wirkte in Maus-spezifischen T-Zellen als negativer Regulator der Th-17-Differenzierung und verminderte das pathologische Potential von IL-17 (67). SOCS-Proteine, wie SOCS1 und SOCS3, sind Zytokin-induzierte negative Rückkopplungsregulatoren, die bestehende JAK-STAT-Signalkaskaden hemmen (49, 74). Somit bewirkt SOCS1 eine Hemmung STAT1-abgeleiteter Signalwege, während SOCS3 bevorzugt STAT3-abgeleitete Signalkaskaden betrifft (49, 74, 118). Demzufolge könnte STAT1 über eine vermehrte Induktion von SOCS3 einen wichtigen modulierenden Einfluss auf das Th-17-fördernde Signal von STAT3 ausüben (27, 74). Bemerkenswerterweise wurde in einer neueren Studie, die sich mit dem spezifischen Expressionsvermögen von SOCS1 und SOCS3 aus menschlichen T-Zellen als Reaktion auf IL-27 befasste, eine intensive Korrelation zwischen den Niveaus von IL-17 und einer vorherrschenden SOCS1-Expression beobachtet (114). Darauf basierend wurde eine IL-27-vermittelte Inhibition der IL-17-Sekretion durch SOCS1 vorgeschlagen (114). Dieser Fakt ist von besonderem Interesse, da auch IFN- γ eine Rolle in der Induktion von SOCS1 zugesprochen wird (siehe Tabelle 1: IFN- γ -abhängige Genexpressionen und Transkriptionsfaktoren).

Dies lässt die Hypothese zu, dass IFN- γ über einen ähnlichen STAT1-abhängigen Mechanismus eine Verringerung der IL-17-Produktion herbeiführen könnte.

Unterstützt wird diese Vorstellung durch zwei Studien, die belegten, dass IFN- γ an einer Induktion von SOCS3 in mesenchymalen Stammzellen und Endothelzellen beteiligt ist (16, 112). Es wurde deutlich, dass mesenchymale Stammzellen die Th-17-Differenzierung limitieren und dieser modulierende Effekt auf IFN- γ zurückzuführen ist, das über eine Aktivierung von STAT1 an einer verbesserten Expression von SOCS3 teilhat (112). Zusätzlich zeigte sich, dass IFN- γ selektiv STAT3-abhängige IL-6-Signalwege durch eine Erhöhung der SOCS3-Expression in Endothelzellen inhibiert (16). Erstaunlicherweise hemmte IFN- γ hierbei lediglich die Expression von IL-6-abhängigen Expressionen von anti-, aber nicht pro-inflammatorischen Zielgenen, so dass eine IFN- γ -induzierte Verschiebung der IL-6-Signalwege zu einem pro-inflammatorischen Phänotyp einsetzte (16).

Anderen Quellen zufolge könnte die hemmende Wirkung von IFN- γ auf einen Prozess zurückzuführen sein, der eine Induktion anderer Th-17-dämpfender Zytokine vorsieht (31, 141). Ein Modell der Experimentellen autoimmunen Uveoretinitis (EAU) belegte, dass nach erfolgreicher EAU-Immunisierung eine charakteristische Rekrutierung IFN- γ -produzierender NK-Zellen zu den Dendritischen Zellen drainierender Lymphknoten erfolgte, die in einer unmittelbaren Interaktion beider Zelltypen mündete (31). Solch eine Interaktion äußerte sich in einer gesteigerten Produktion von IFN- γ aus NK-Zellen und IL-27 aus Dendritischen Zellen, wobei jedes dieser Zytokine die Produktion des jeweils anderen über einen positiven Rückkopplungsmechanismus verstärkte (31). Darauf beruhend trat eine hemmende Entwicklung adaptiver Th-17-Zellen und eine gesteigerte Entwicklung immunsuppressiver T-regulatorischer-Typ1-Zellen (Tr1-Zellen) ein (31). Mit den beobachteten Effekten der EAU übereinstimmend demonstrierte auch ein Modell der EAE, dass IFN- γ eine vermehrte Induktion von IL-27 aus Dendritischen Zellen bewirkte und somit im Stande war, Immunreaktionen in der Peripherie und im ZNS zu beeinflussen (141).

Ein weiterer denkbarer Inhibitionsmechanismus von STAT1 könnte in Kooperation mit anderen Transkriptionsfaktoren stattfinden. Es konnte bereits demonstriert werden, dass STAT1 eine Bindung zum Ets-1 eingehen kann (246). Ergänzende Untersuchungen werden

nötig sein, um die Bedeutung dieser Wechselwirkung aufzuklären und festzulegen, ob diese Interaktion einen begrenzenden Faktor der Th-17-Differenzierung darstellen könnte.

Zusammenfassend bedarf es weiterer Forschungsarbeit, um eine eindeutige Definition der molekularen Mechanismen einer IFN- γ -vermittelten STAT1-Inhibition der IL-17-Produktion und Th-17-Differenzierung aufzudecken.

Bedeutung von STAT3

Während die pro-inflammatorischen Wirkungen einer JAK1/STAT1-Signalisierung gut dokumentiert wurden, sind nur wenige Kenntnisse über den inhibierenden Effekt einer JAK1/STAT3-Signalisierung bekannt (222). Dennoch sollte nicht ausgeschlossen werden, dass STAT3 in Kooperation mit anderen Transkriptionsfaktoren agiert oder mit einer Induktion anderer einflussnehmender Elemente an einer Limitierung der Th-1-Untergruppe teilhat. In diesen Zusammenhang berichtete eine ältere Quelle über eine IL-6 angetriebene STAT3-Aktivierung, die in einer Induktion des zuvor erwähnten negativen Regulators der STAT1-Signalisierung, SOCS1, mündete (39). In Anbetracht des kritischen Stellenwertes von STAT1 wurden STAT3 und IL-6 somit eine wichtige Rolle in einer Einschränkung der Th-1-Spezifikation und IFN- γ -Produktion zugeschrieben (39). Obwohl diese ältere Studie einen interessanten Aspekt ansprach, fand sie keine Bestätigung durch neuere Studien und ist demzufolge mit Vorsicht zu betrachten.

An einem weiteren Zytokin, dem IL-12, demonstrierte eine jüngere Studie in einem Modell von Dendritischen Zellen aus dem Menschen, dass eine bestehende JAK1/STAT3-Signalisierung einen hemmenden Effekt auf eine ROS/RELA/CDK9-abhängige Induktion von IL12-p70 ausübte, die aufgrund starker NF- κ B-aktivierender Stimuli wie E. coli oder LPS mit IL-1 β hervorgerufen wurde (222). Sie beobachteten, dass in Abhängigkeit von schwachen oder starken extrazellulären NF- κ B-aktivierenden Stimuli zwei alternative Wege zur Induktion von IL12p70 eingeschlagen werden könnten: 1. ein IFN- γ -unabhängiger Signalweg unter Beteiligung von ROS, RELA und CDK9, oder 2. ein IFN- γ -abhängiger Signalweg unter Mitwirkung von STAT1, IRF-1, IRF-8, CREL und RELA (222). Hierbei war es STAT3 nicht möglich, eine Limitierung der IFN- γ -abhängigen Induktion von IL-12p70 vorzunehmen (222). IL-12p70, bestehend aus den Untereinheiten IL-12p35 und IL-12p40, ist ein pro-inflammatorisches Zytokin, das an einer Reifung von natürlichen Killerzellen (NK)

und von zytotoxischen T-Lymphozyten beteiligt ist und zudem einen wichtigen Beitrag zur IFN- γ -Produktion und Th-1-Differenzierung leistet (siehe Kapitel 6.). Um den Nachweis einer STAT3-abhängigen Regulierung der IL-12p70-Expression zu erbringen, nutzen die Autoren siRNA für STAT3 und STAT1, wobei sie eine unmittelbare Rolle von STAT3 feststellten (Abb. 26 B). Demnach verstärkte ein siRNA Knockdown für STAT3 das Expressionsvermögen der mRNAs von IL-12p35 und IL-12p40 nach 18h einer Stimulation mit E.coli (Abb. 26 C) (222). Weitere Untersuchungen zeigten, dass STAT3 direkt die RELA-vermittelte CDK9 Rekrutierung zum IL12p35-Promotor inhibierte und somit eine verminderte transkriptionelle Aktivität begründete (Abb. 26 A) (222).

Diese Daten lassen die Hypothese zu, dass STAT3 über eine begrenzte Expression des IL-12 aus Dendritischen Zellen indirekt einen Einfluss auf die IFN- γ -Produktion von T-Zellen vermitteln könnte. Obwohl dieser Mechanismus nur auf den spezifischen Fall von E. coli oder LPS mit IL-1 β anzuwenden ist, wurde erkennbar, dass STAT3 ein regulatorisches Potential aufweist und für eine geregelte Expression anderer Th-1-assoziiierter Zytokine ausschlaggebend sein könnte.

Andere Quellen illustrierten zusätzlich, dass STAT3 die Fähigkeit besitzt, an GAS (gamma-interferon-activation sites) (210) oder Foxp3-abhängige DNA-Sequenzen (99) zu binden. Demnach bewirkte STAT3 eine Hemmung der Foxp3-Expression und Unterdrückung der Treg-Zelldifferenzierung (99).

Es wird angenommen, dass STAT3 mit dem Foxp3-fördernden STAT5 um Enhancer-Regionen innerhalb des Foxp3-Genortes konkurriert, so dass in der Abwesenheit von STAT3 signifikant erhöhte Bindungen von STAT5 auftreten (99).

Allerdings wurde nicht auf den regulatorischen Charakter hinsichtlich einer möglichen transkriptionellen Förderung oder Hemmung von GAS-abhängigen DNA-Sequenzen durch gebundene unphosphorylierte STAT3-Mono- oder Dimere aufmerksam gemacht (210). Somit bestände die Möglichkeit, dass STAT3 neben der zuvor vorgeschlagenen Inhibition von Th-1-fördernden Faktoren (IL-12), auch direkte Repressorfunktionen gegenüber IFN- γ -reaktiven Genen ausüben könnte.

Dass STAT3 inhibierendes Potential aufweist, ging aus einer Studie hervor, die den Nachweis erbrachte, dass vom IL-27 aktiviertes STAT3 an einer reduzierten Expression des chemotaktischen Lockstoffes RANKL Beteiligung findet (82).

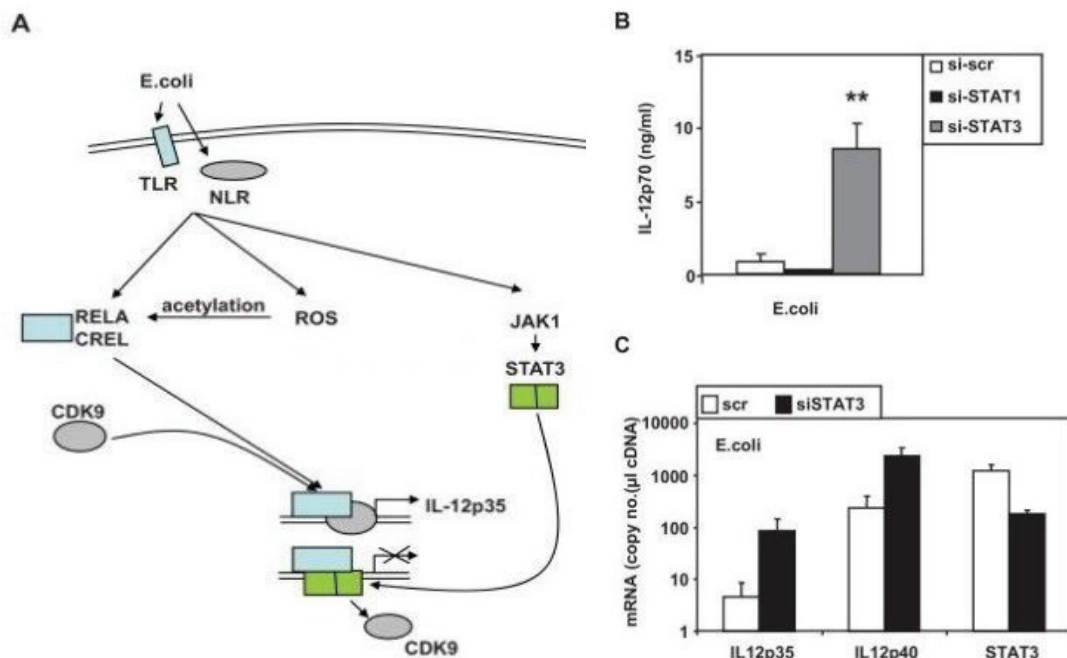


Abb. 26: Darstellung der Regulation der IL-12p35 mRNA-Expression durch RELA, STAT3 und CDK9, modifiziert nach (222).

(A) Eine Stimulation von Dendritischen Zellen aus dem Menschen mit lebenden *E. coli* über TLR (Toll-like Rezeptoren) und NLR (NOD-like Rezeptoren) bewirkt die Aktivierung von NF-κB (RELA), reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und JAK1/STAT3. STAT3 und CDK9 können beide zu RELA binden. Das hemmende Potential von STAT3 wurde durch die kompetitive Bindung an die gemeinsame RELA/STAT3-Bindungsstelle an den IL-12p35-Promoter vermittelt, wodurch eine verringerte Bindung von CDK9 eintrat.

(B) Si-RNA Knockdown für STAT1 und STAT3 dieser Zellen aktiviert mit *E. coli*, IL-12p70-Level wurden in den Überständen 24-36h nach der Aktivierung gemessen.

(C) Real-time-PCR dieser Zellen mit verschlüsselten Kontroll-(scr)-siRNA und siRNA für STAT3.

Insgesamt scheint eine Wechselwirkung aus Sicht der nachgeschalteten STAT1- und STAT3-Signalwege durch IL-17 und IFN-γ zu bestehen. Hinweise auf die Existenz solcher Beziehungen geben Messungen der Aktivierung von STAT3 in DRG-Neuronen der Ratte nach Zugabe von entweder IL-17 allein oder in Kombination mit IFN-γ (Abb. 27). IL-17 allein ist in der Lage STAT3 zu aktivieren, die Aktivierung wird aber in Kombination mit IFN-γ stärker. Umgekehrt wurde die STAT1-Aktivierung durch IFN-γ bei einer gemeinsamen Applikation mit IL-17 deutlich abgeschwächt (pers. Mitteilung Chr. König).

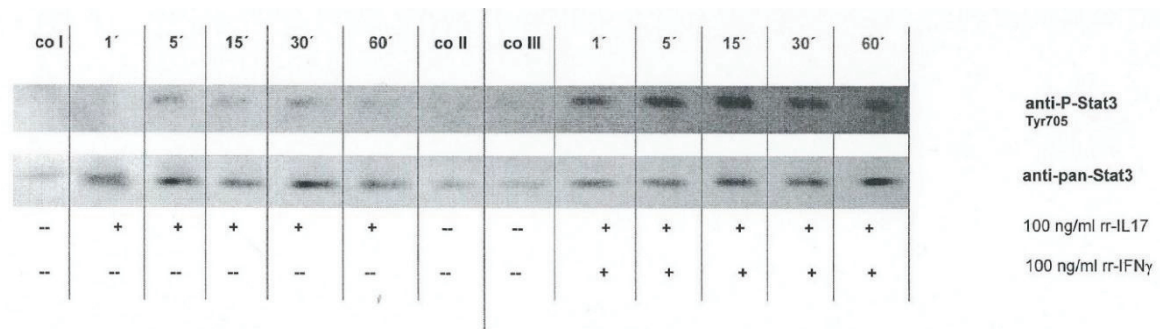


Abb. 27: Western-Blot der Aktivierung von STAT3 nach Zugabe von IL-17 allein (linke Bildhälfte bis co II) oder IL-17 gemeinsam mit IFN- γ (rechte Bildhälfte ab co III).

Kulturen von DRG-Neuronen der Ratte wurden zu verschiedenen Zeitpunkten mit 100 ng/ml IL-17 allein oder zusammen mit 100 ng/ml IFN- γ und einem Antikörper für das phosphorylierte STAT3 (anti-P-STAT3 Tyr705) versehen. Die Symbole „+“ und „--“ in den Zeilen „100 ng/ml rr-IL17“ bzw. „100 ng/ml rr-IFN γ “ zeigen Zugabe oder Verzicht auf die Zugabe an.

Die Kulturen mit IL-17 allein zeigten eine schwache Phosphorylierung von STAT3 nach 5, 15 und 30 min der Applikation.

Die Kombination von 100 ng/ml IFN- γ und IL-17 löste eine stärkere Phosphorylierung von STAT3 als IL-17 allein nach 1, 5, 15, 30 und 60 min der Applikation aus.

Mit Hilfe eines STAT3-Antikörpers (anti-pan-STAT3) wurde eine Protein-Ladekontrolle durchgeführt. Diese zeigte, dass alle Kulturen von DRG-Neuronen eine Grundaktivität von STAT3 besaßen.

Zusammenfassend scheint STAT1 eine redundante Rolle in der suppressiven Aktivität von IFN- γ zuzukommen, da ein ausgeprägtes STAT1-Defizit alle begrenzenden Effekte der Th-17-Untergruppe und IL-17 Produktion aufhob. Es wurde deutlich, dass zwei differenzielle Hemm-Mechanismen zur Unterdrückung der Th-17-Untergruppe existieren, die sich in vielerlei Hinsicht kooperativ unterstützten, um eine effektive Dämpfung der Th-17-Antwort herbeizuführen: 1. eine STAT1-abhängige Hemm-Maschinerie und 2. eine T-bet-abhängige Hemm-Maschinerie (219).

Die limitierende Wirkung von STAT1 trat unabhängig von T-bet auf (219) und bewirkte eine Unterdrückung der Th-17-assoziierten Gene IL-17A und IL-17F (243). Im Gegensatz zum IL-17A und IL-17F war die hemmende Wirkung von IFN- γ auf das Expressionsvermögen von ROR- γ t und IL-21 von einer Expression von T-bet abhängig (243).

Die hemmende Wirkung von STAT1 scheint nicht nur einen unabhängigen Inhibitionsmechanismus zur Unterdrückung der IL-17A- und IL-17F-Sekretion darzustellen,

sondern gleichzeitig die limitierenden Effekte von T-bet auf Th-17-fördernde Moleküle wie ROR- γ t zu überwachen, indem STAT1 die weitere Induktion von T-bet reguliert (243)

Parallel zum IFN- γ wurde auch im Falle des STAT1-aktivierenden IL-27 eine STAT1-abhängige Inhibition der IL-17-Produktion festgestellt (204). Es wurde deutlich, dass IL-27 wie IFN- γ nur in Gegenwart von STAT1 für eine Reduktion von Th-17-verwandten Transkripten in Maus- und Mensch-spezifischen T-Zellen ausschlaggebend war (40, 114, 219). Somit könnten alle STAT1-aktivierenden Zytokine eine einschränkende Wirkung auf die Th-17-Differenzierung und IL-17-Sekretion ausüben (59, 219).

Bisher wurden nur geringe Fortschritte auf dem Gebiet der molekularen Aufklärung dieser Zytokin-vermittelten STAT1-Hemmung gemacht (66). Es wird angenommen, dass STAT1 sowohl direkte als auch indirekte Repressorfunktionen vermitteln könnte, um eine Dämpfung der Th-17-Antwort zu verursachen (219). Das Spektrum der nachgeschalteten Hemm-Mechanismen könnte von einer Bindung zu linienspezifischen Promotoren oder Enhancer-Regionen Th-17-typischer Gene (26, 100, 219), bis hin zu einer Induktion Th-17-suppressiver Faktoren (27, 67, 114, 179, 219) oder einer verstärkten Induktion Th-17-dämpfender Zytokine (31, 141) reichen.

Während die pro-inflammatorischen Wirkungen einer JAK1/STAT1-Kaskade gut dokumentiert wurden, sind nur vergleichbar wenige Kenntnisse über den inhibierenden Effekt einer JAK1/STAT3-Kaskade bekannt (222). Verschiedene Studien untermauerten das regulatorische Potential von STAT3 und zeigten, dass STAT3 viele DNA-Sequenzen spezifischer Gene bindet und eine Repression von Genen vermitteln kann, wie einer Unterdrückung der Foxp3-Expression (99) oder RANKL-Expression (82).

Hinweise auf die Existenz einer komplexen Beziehung zwischen den nachgeschalteten STAT1- und STAT3-Faktoren des IL-17 und IFN- γ lieferten Messungen der Aktivierung von STAT3 in DRG-Neuronen der Ratte nach Zugabe von entweder IL-17 allein oder in Kombination mit IFN- γ (Abb. 27). Es zeigte sich, dass IL-17 allein im Stande war, STAT3 zu aktivieren und die Aktivierung von STAT3 in Kombination mit IFN- γ verstärkt wurde. Umgekehrt wurde die STAT1-Aktivierung durch IFN- γ bei einer gemeinsamen Applikation mit IL-17 deutlich abgeschwächt (pers. Mitteilung Chr. König).

8. Nachweis einer vorherrschenden Interaktion

8.1. Synergistische Wirkungen zwischen IFN- γ und IL-17

Obwohl IFN- γ in vielen autoimmunen Einstellungen als negativer Regulator der IL-17-Antwort angesehen wird (68, 76, 170), könnte es über einen synergistischen Effekt verfügen, der in Kooperation mit IL-17 für eine gesteigerte Pathogenität der Rheumatoiden Arthritis (RA) ausschlaggebend ist (87). Es scheint, als würde die Wechselwirkung von IL-17 und IFN- γ auf einem Mechanismus beruhen, indem IFN- γ als wichtiger wegbereitender Faktor des IL-17 agiert und einen kritischen Einfluss auf umliegende synoviale Zelltypen ausübt (87).

Die Pathogenese der RA ist komplex und umfasst viele Zelltypen, einschließlich T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen und Fibroblasten-ähnliche-Synoviozyten (FLS) (9, 123). Diese stehen in Form eines umfangreichen Netzwerkes untereinander in Kontakt und stimulieren sich wechselseitig (9, 30, 134). Somit bedingen sie über die Ausprägung zahlreicher positiver Rückkopplungsschleifen eine stetige Induktion entzündungsfördernder Mediatoren, die die Formung eines krankhaften rheumatoiden Zytokinmilieus ermöglichen (9).

Es wurde demonstriert, dass der Hauptteil von proinflammatorischen Zytokinen in der RA auf FLS und Makrophagen zurückzuführen ist (9). Insbesondere aktivierte FLS übernehmen hierbei einen wichtigen pathologischen Stellenwert als Induktoren von chemotaktischen Lockstoffen, wie MIP-1 α , RANTES, IP-10, ENA-78, MCP-1 und MIP-1 β , den proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-6 und GM-CSF, und destruktiven Enzymen, wie MMPs (9). Eine Aktivierung von FLS konnte aufgrund spezifischer proinflammatorischer Stimuli, einschließlich IL-1 β , TNF- α , IL-17, IFN- γ (9, 134), oder einer direkten Wechselwirkung zu anderen Zellgruppierungen festgestellt werden (30, 134). In diesem Zusammenhang wurde unlängst über eine starke physikalische Assoziation zwischen T-Zellen und FLS berichtet, die auf spezifische Zell-Zell-Adhäsionsmolekül-Wechselwirkungen von LFA-1 zu ICAM-1(CD54) oder CD2 zu LFA3 zurückzuführen sind (61, 97, 145). Analog zu ihrer bedeutsamen Funktion als Quelle proinflammatorischer Mediatoren (9) verfügen FLS über die Fähigkeit, erhebliche Mengen von MHC-II-Komplexen zu exprimieren (264), die von funktioneller Bedeutsamkeit in einer Antigenpräsentation und Aktivierung von T-Zellen

sind (123, 212). Es wurde dokumentiert, dass aus einer Behandlung von FLS mit IFN- γ eine vermehrte MHC-II-Expression resultierte, die FLS dazu befähigte, T-Zellen in Gegenwart von Superantigenen zu stimulieren (123). Die aktivierten Lymphozyten konnten anschließend Zytokine produzieren, die zu einem pro-inflammatorischen Milieu beitrugen (123). Einer anderen in vitro-Studie zu Folge verfügten FLS in der RA über das Potential, APC-Funktionen zu übernehmen und eine Präsentation von Autoantigen-abgeleiteten Peptiden des synovialen Gewebes an T-Zellen durchzuführen, die dadurch in einen aktiven Zustand überführt wurden (212). Weitere Untersuchungen an Typ-II-Kollagen-spezifischen T-Zellen verdeutlichten, dass FLS und T-Zellen einen gegenseitig verstärkenden Effekt aufeinander ausübten, so dass eine Co-Inkubation von T-Zellen mit FLS eine erhöhte Menge von IL-17 und IFN- γ im Vergleich zu ruhenden T-Zellen ohne FLS hervorbrachte (134). Auf der anderen Seite induzierten T-Zellen in Fibroblasten erhöhte Konzentrationen von TNF- α , IL-15, IL-18 (134) und den Chemokinen IL-8, MCP-1 und MIP-1 α (30). Diese Befunde untermauern den pathologischen Stellenwert einer wechselseitigen Interaktion von T-Zellen und FLS, insbesondere in Bezug auf die Gestaltung einer krankhaften proinflammatorischen Zytokinumgebung der RA.

Interessanterweise scheint diese Wechselwirkung in starker Abhängigkeit von Zell-Zell-Kontakten und den Induktionsvermögen diverser Adhäsionsmoleküle aufzutreten (30, 87, 134). Ältere Studien demonstrierten bereits früh, dass IFN- γ für eine Hochregulation von MHC-II (4, 29, 97), CD40 (244) und CD54 (97, 136, 194, 244) aus FLS ausschlaggebend war.

Es gilt hervorzuheben, dass nicht der spezifische Stellenwert von IL-17 oder der zum Zeitpunkt jener Publikation noch unbekannten Th-17-Untergruppe berücksichtigt werden konnte. Eine neuere Studie befasste sich mit dieser Problematik und überprüfte das spezifische pathologische Ausmaß von IFN- γ im Vergleich zum IL-17 in einer Induktion dieser Adhäsionsmoleküle und einer damit assoziierten Genexpression von proinflammatorischen Faktoren aus FLS (87). Hierbei wurden die bisherigen Kenntnisse bestätigt, indem FLS mit verschiedenen Konzentrationen von IFN- γ und IL-17 in der Abwesenheit von T-Zellen kultiviert wurden. Im Gegensatz zum IL-17 war IFN- γ für eine signifikante Hochregulation von Zell-Interaktionsmolekülen auf RA-FLS verantwortlich (Abb. 28). In einer Kultivierung von menschlichen CD4⁺T-Zellen wurde unter Th-1- und Th-

IL-17-polarisierenden Konditionen das Auftreten gemischter Phänotypen beobachtet, so dass beide Populationen eine Expression von IL-17 und IFN- γ aufwiesen (87). Davon abgeleitet wurde auch in einer experimentellen Co-Kultivierung von menschlichen Th-1- oder Th-17-Zellen in Kombination mit RA-FLS in beiden T-Zell-Populationen eine vermehrte Expression von CD40, MHC-II und CD54 ausfindig gemacht (87). Das Ausmaß dieses Effekts war in Th-1-Zellen größer als in Th-17-Zellen, das mit einer höheren Produktion von IFN- γ einherging (87).

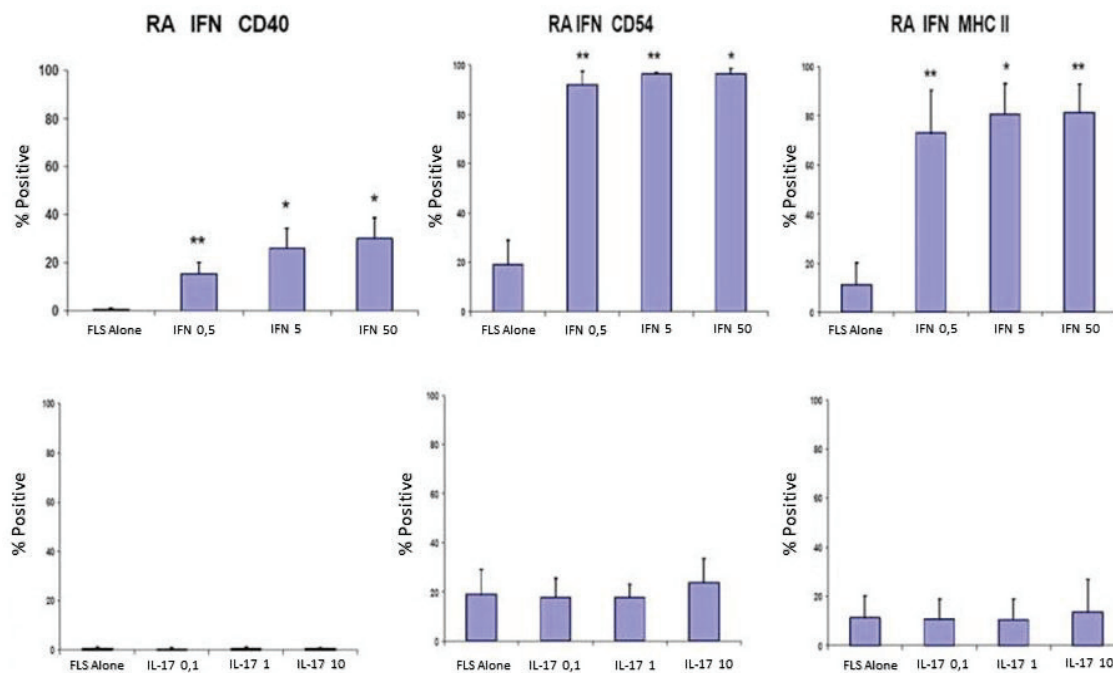


Abb. 28: IFN- γ , nicht aber IL-17, induziert CD40, CD54, und MHC-II auf RA-FLS, aus einer Versuchsreihe von (87).

FLS von Patienten mit RA wurden in Gegenwart von entweder IFN- γ : 0,5 ng/ml, 5 ng/ml, 50 ng/ml (obere Diagramme) oder IL-17: 0,1 ng/ml, 1 ng /ml oder 10 ng/ml) (untere Diagramme) für 48 Stunden kultiviert und die Zahl entsprechend positiver Zellen ausgezählt.

Schließlich wurde durch die weitere Behandlung mit neutralisierendem Antikörper des IFN- γ an einer Co-Kultivierung von Th-17-Zellen und RA-FLS nachgewiesen, dass im Spezifischen IFN- γ für eine Induktion pathogener Zell-Interaktionsmoleküle zwischen RA-FLS und menschlichen Th-17-Zellen verantwortlich war (Abb. 29) (87). Es trat eine signifikante Verringerung des Expressionsvermögens von CD40 und CD54 ein (87). Es konnte kein vergleichbarer Effekt bei einer Neutralisierung von IL-17 detektiert werden. IL-17 bewirkte im Gegensatz zum IFN- γ die ausgeprägte Induktion der proinflammatorischen Zytokine

IL-6 und IL-8 aus RA-FLS. In dieser Versuchsreihe resultierte auch nach einer Blockade des IFN- γ eine limitierte Expression von IL-6 und IL-8 bei einer Co-Kultivierung von Th-17-Zellen und RA-FLS (Abb. 29), die einen wichtigen Stellenwert von Adhäsionsmolekülen in einer Freisetzung pro-inflammatorischer Faktoren annehmen lässt (87).

Diese Daten lassen die Schlussfolgerung zu, dass IFN- γ und nicht IL-17 in humanen Th-17-Zellen einen wesentlichen Beitrag zum pathologischen Ausmaß bei einer Induktion von CD40, CD54, MHC-II aus FLS leistet, und dass Th-1-Zellen potenter als Th-17-Zellen in einer Induktion dieser Moleküle sind (87). Die vermehrte Hochregulation von FLS-Zell-Interaktionsmolekülen machte sich vor allem in einer vergrößerten FLS-Reaktion auf IL-17 bemerkbar, so dass IFN- γ tatsächlich über einen synergistischen Effekt zum IL-17 verfügen könnte (87). Weiterhin scheint IFN- γ eine entscheidende Rolle als Vermittler einer zweiseitig gerichteten Verstärkungsschleife zwischen FLS und T-Zellen zu agieren, in dem es durch eine geregelte Expression von MHC-II, CD40 und CD54 eine effiziente Aktivierung beider Zellgruppen zulässt (87).

Damit übereinstimmend folgte aus der Bindung eines Liganden an CD40 eine vergrößerte Proliferation und Expression von CD54 und proinflammatorischen Zytokinen aus FLS (30, 134, 244). CD54 fungierte als kritischer Faktor einer robusten T-Zell-Haftung und verbesserten Antigenpräsentation von FLS zu T-Zellen (97, 123, 145), die eine unmittelbare Aktivierung und Induktion proinflammatorischer Mediatoren aus beiden Zelltypen zur Folge hatte (30, 87, 134). Im Angesicht einer Antigenpräsentation von FLS könnten MHC-II-Komplexe einer Präsentation von arthritogenen Autoantigenen zu T-Zellen dienen, die in einer positiven Rückkopplung und Aktivierung autoreaktiver T-Zellen münden (123, 212). Dies lässt die Hypothese zu, dass IFN- γ und IL-17 wichtige Komponenten einer entzündlichen Schleife darstellen, die in einer differenziellen Induktion von Zell-Zell-Interaktionsmolekülen und löslichen Entzündungsmediatoren zusammenwirken.

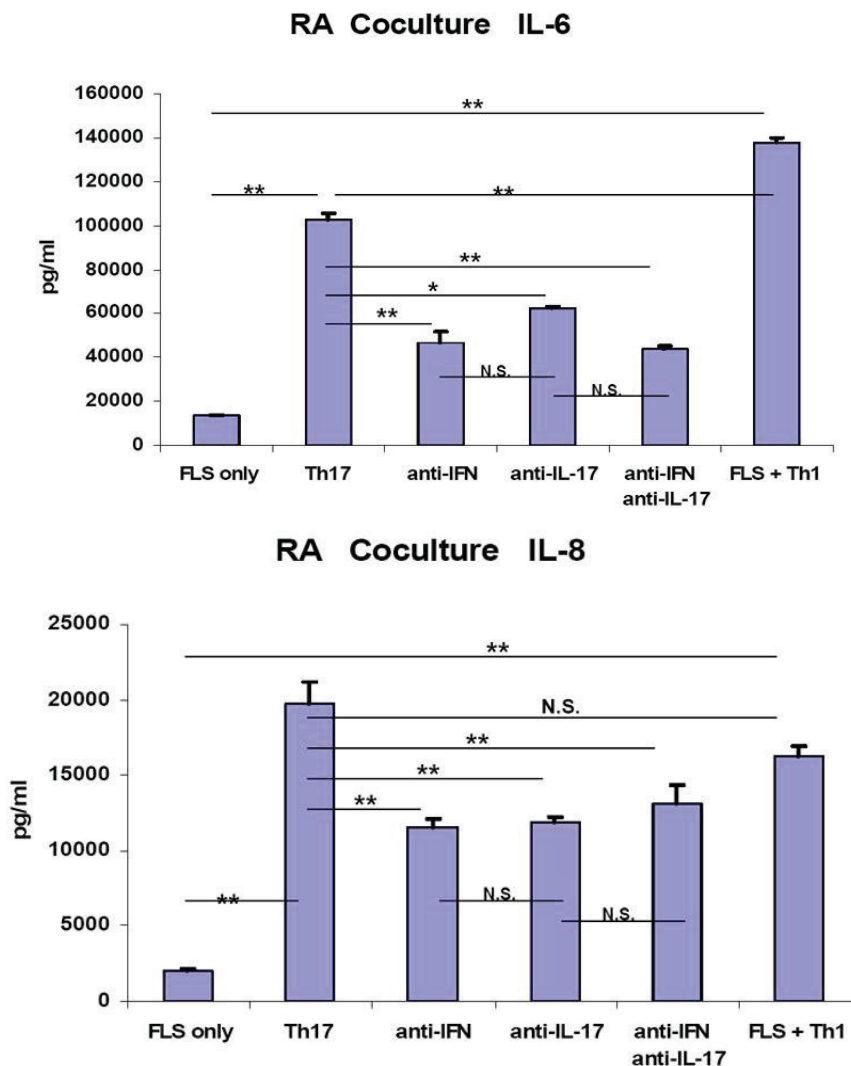


Abb. 29: Bestimmung der Freisetzung von IL-6 und IL-8 aus menschlichen CD4+T-Zellen, die aus Patienten mit RA gewonnen wurden. Die Säulen zeigen die Freisetzung, wenn entweder nur FLS, nur Th-17-Zellen, ein Antikörper gegen IFN- γ , ein Antikörper gegen IL-17, ein Gemisch beider Antikörper oder ein Gemisch von FLS und Th-1-Zellen zugegeben wurde. Die signifikant stärkere Abnahme der IL-6-Freisetzung nach der Zugabe des Gemischs der Antikörper gegen IL-17 und IFN- γ als nach jedem der beiden Antikörper allein zeigt, dass IFN- γ und IL-17 in einer Induktion pro-inflammatorischer Mediatoren kooperieren, bearbeitet nach (87).

In Ergänzung zu einer Induktion von CD40 und CD54 auf FLS wurde IFN- γ als wirksames Zytokin in einer Hochregulation der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 (42, 45, 80, 98, 148, 202, 224) und VCAM-1 (98, 102, 139) in Synergie mit TNF- α (80, 98, 102, 224), IL-1 β (42) oder IL-17 (45) auf verschiedenen Zelltypen identifiziert. Die Zellen entstammten unterschiedlichen Geweben oder Organen. Verwendet wurden Zellen einer menschlichen Melanom-Zelllinie (80), menschliche Lungenepithel-A549-Zellen (224), menschliche Anulus Fibrosus Zellen und Nucleus Pulposus Zellen (45), Epithelzellen des Plexus Choroideus (98),

menschliche dermale Fibroblasten (42), sinusoidale endotheliale Zellen (148), ECV304 Zellen (eine transformierte endotheliale Zelllinie) (32), menschliche Endothelzellen der Nabelschnurvene (102, 139) und endotheliale Zellen des Rattenhirns (202).

ICAM-1 und VCAM-1 gelten als wichtige Faktoren in einer dreistufigen Migrationskaskade, die für eine Rekrutierung neuer Entzündungszellen zum betroffenen Gewebe erforderlich sind (133, 153, 252). Dieser mehrstufige Prozess besteht typischerweise aus: 1. einem anfänglichen Binden und Rollen an der Zelloberfläche von aktivierten Endothelialen Zellen (EC) durch Selektine (17, 133, 153, 171, 252); 2. einer Leukozyten-Haftung und festen Adhäsion an der Oberfläche von ECs durch ICAM-1 und VCAM-1 (17, 133, 153, 252), und 3. einer anschließenden Transmigration entlang eines chemotaktischen-Gradienten zur Seite des entzündlichen Gewebes (133, 153) (Abb. 30). Zusätzlich zeigte sich, dass ICAM-1 und VCAM-1 durch verschiedene Mechanismen an einer parazellulären und transzellulären transendothelialen Zellmigration teilhaben (153). Neben der Induktion von Adhäsionsmolekülen könnte IFN- γ andere Abschnitte dieser Migrationskaskade beeinflussen, so dass IFN- γ mit einer Expression der Chemokine CXCL9 (MIG) (98, 196, 230), IP-10 (CXCL10) (17, 98, 196, 230), MIP-1 α (CCL3) und MIP-1 β (CCL4) (17, 196), RANTES (CCL5) (17, 196, 230) und MCP-1 (17) am Aufbau eines chemotaktischen-Gradienten beteiligt sein könnte.

Diese Informationen lassen die Schlussfolgerung zu, dass IFN- γ als wichtiger Induktor von Adhäsionsmolekülen in einer Rekrutierung neuer Entzündungszellen zum jeweiligen Gewebe unter entzündeten oder physiologischen Bedingungen mitwirken könnte und auf diese Weise IL-17 in seinen pathologischen Wirkungen über eine Bereitstellung neuer potentieller Ziele und pro-inflammatorischer Quellen unterstützt. Somit könnte ein Wechselspiel von IFN- γ und IL-17 eine fortschreitende Progression von Entzündungen begründen. Unterstützt wird diese Vorstellung durch eine Studie, in der erhöhte Konzentrationen von löslichen ICAM-1 und VCAM-1 im Serum von rheumatischen Patienten festgestellt wurde, die mit den klinischen Symptomen (Anzahl der geschwollenen Knie) korrelierten (90). Damit übereinstimmend wurde in einem Modell der CIA eine geringere Krankheitsaktivität bei ICAM-1-defizienten Mäusen beobachtet (21).

Auch im Gehirn zeigte sich, dass IFN- γ die Leukozyten-Migration durch den Plexus Choroideus in das ZNS unter physiologischen und entzündlichen Bedingungen reguliert, indem es allein oder in Synergie mit TNF- α eine erhöhte Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 ermöglicht (98).

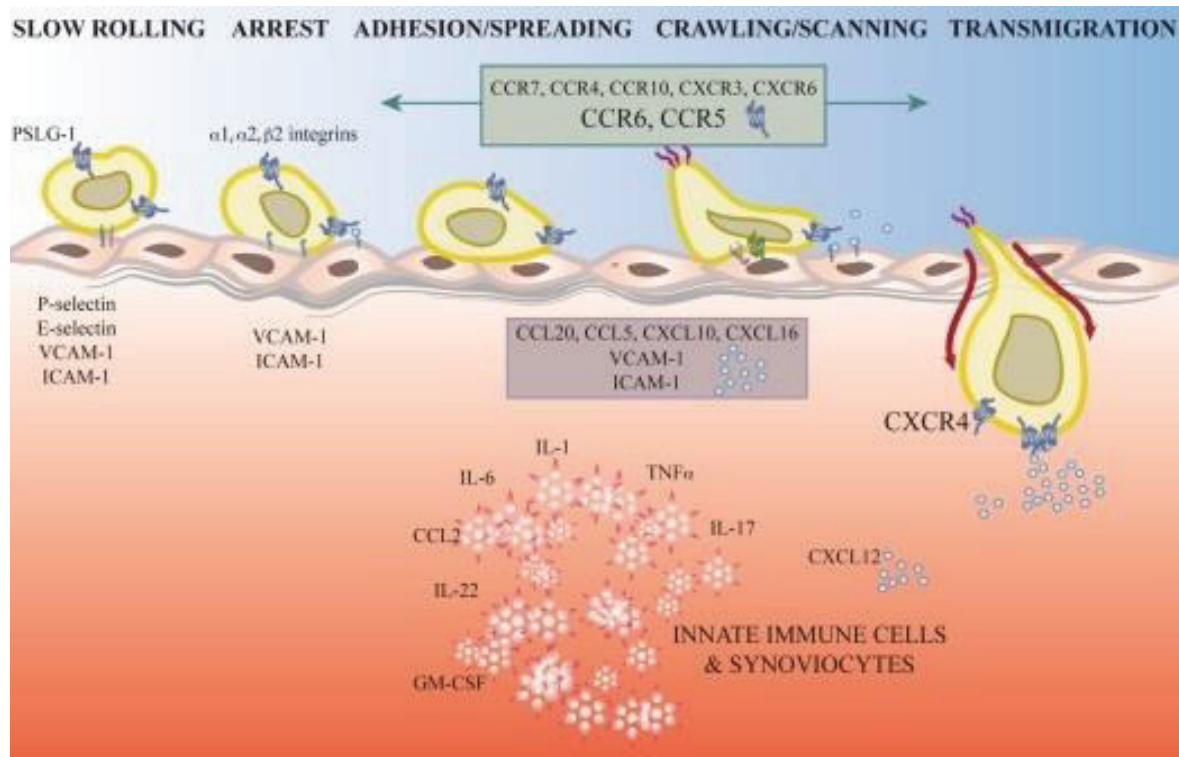


Abb. 30: Extravasationsmodell für T-Zellen zum entzündeten Gelenk, abgewandelt nach einer Darstellung von (133).

Als Reaktion auf proinflammatorische Mediatoren werden Leukozyten und vaskuläre Zellen aktiviert. Durch eine Aktivierung von ansässigen Immunzellen, wie z.B. den Th1-, Th17- oder Treg-Zellen, findet eine Einleitung einer Migrationskaskade statt, die Rollen, Haften und eine Transmigration beinhaltet. Dadurch findet eine Migration neuer Immunzellen der Blutgefäße in das entzündete Gelenk statt. Die Abbildung zeigt weiterhin inflammatorische Zytokine, Selektine, Integrine, Adhäsionsmoleküle, Chemokine und die beteiligten Chemokin-Rezeptoren in dem Prozess der Extravasation.

Es sollte berücksichtigt werden, dass die synergistischen Wirkungen von IL-17 und IFN- γ nicht nur pathologische Effekte betrafen, sondern ebenfalls auf protektive Maßnahmen gegenüber spezifischen Erregern zurückzuführen sein könnten (147, 254). Demnach wurde deutlich, dass IFN- γ und IL-17 in synergistischer Weise zu einer verstärkten iNOS-Expression (254) und damit assoziierten NO-Produktion (147, 254) in infizierten Makrophagen und Lungenepithel-Zellen (TC-1-Zellen) beitrugen und somit an einer Hemmung von Leishmania-Infektionen und Chlamydien-Lungeninfektionen (Cm) mitwirkten (147, 254).

Die Cm-hemmende Wirkung von Makrophagen konnte durch die Nutzung eines iNOS-Inhibitors Aminoguanidin umgekehrt werden, und auch eine Neutralisation von IL-17A in Cm-infizierten Mäusen führte zu einer verringerten iNOS-Expression in der Lunge und einem erhöhten Cm-Wachstum (254). Neben diesen Studien demonstrierten Gao et al, dass IL-17 und IFN- γ auch unter nicht infizierten Umständen synergistisch an einer Erhöhung der iNOS2-Expression und NO-Produktion in RAW 264.7-Zellen teilnehmen (einer spezifischen Makrophagen-Zelllinie der Maus) (50). Obwohl es IL-17 allein nicht möglich war, eine signifikante Induktion der NOS2-Expression oder Stickstoffmonoxid (NO)-Produktion herbeizuführen, verstärkte es die IFN- γ -induzierte NOS2-Hochregulation und NO-Produktion in RAW 264.7-Zellen (50). Beim Ergründen der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen zeigte sich, dass eine Kombination von IL-17 und IFN- γ im Vergleich zum IFN- γ allein die transkriptionelle Aktivität von pSTAT1 (Y701) und NF- κ B in RAW 264.7-Zellen verbesserte, sowie die Translokationen zum Kern und deren Bindung an dem Promotor von NOS2 (50).

In Übereinstimmung mit den synergistischen Wirkungen von IFN- γ und IL-17 wurde ein interessanter Effekt zwischen ihren hauptproduzierenden Th-1- und Th-17-Zellen beobachtet, der auf den Transkriptionsfaktor T-bet zurückzuführen war (53, 241). Da IFN- γ bekannt dafür ist, an einer Induktion von T-bet teilzunehmen (2, 108, 197, 239), könnte IFN- γ in diesem Prozess involviert sein. Eine Studie zur EAE berichtete, dass der IL-23-Rezeptor und die anschließende Expansion von IL-17-produzierenden T-Zellen durch T-bet reguliert wurden (53). Demnach war es T-bet möglich, am Promotor des IL-23-Rezeptors zu binden und dessen Transkription einzuleiten (53). Es wurde nicht nur ein deutlicher Anstieg der IL-23R mRNA als Ergebnis einer Kultivierung von EL4-Zellen in Kombination mit einem exprimierenden-T-bet-Vektor pCS2 festgestellt, sondern ebenfalls eine beeinträchtigte Expression des IL-23-Rezeptors in kultivierten Splenozyten der EAE-Maus unter Nutzung einer hemmenden small interfering RNA von T-bet (53). Zusätzlich demonstrierten in vivo Untersuchungen der EAE, dass siRNA-T-bet-behandelte Mäuse eine deutliche Reduktion der IL-23R- und IL-17-Expression gegenüber Kontrollmäusen aufwiesen, was darauf hindeutet, dass T-bet die IL-23R-Expression reguliert und somit einen Einfluss auf das Expressionsvermögen von IL-17 im ZNS ausübt (53). Ergänzend dazu beobachtete eine andere Studie der EAE, dass das Einbringen einer siRNA von T-bet in MOG/CFA-

immunisierten B6-Mäusen in vivo verringerte Anzahlen von IFN- γ - und IL-17-exprimierenden Zellen hervorbrachte (241). Somit unterdrückt die Inhibition von T-bet die Differenzierungen von Th-1- und Th-17-Zellen, so dass T-bet in beiden Differenzierungsprozessen als einflussnehmender Faktor fungieren könnte (241). Allerdings wurde diese synergistische Wirkung zwischen T-bet und dem Expansionsvermögen von IL-17-produzierenden T-Zellen durch eine Regulation des IL-23-Rezeptors später widerlegt (101).

Viele Studien verdeutlichten unter der Nutzung von T-bet-defizienten Mäusen (59, 101, 170, 204, 219, 240, 243) und ektopischen Überexpressionen von T-bet (92, 101, 130, 219), dass dieser Faktor bevorzugt als negativer Regulator in einer Erzeugung IL-17-produzierender T-Zellen dient. Darüber hinaus erbrachten Lazarevic et al den direkten Nachweis, dass eine Überexpression von T-bet eine deutliche Reduktion Th-17-typischer mRNAs nach sich zog, so z.B. der des IL-23-Rezeptors (101). Damit übereinstimmend wurden signifikant höhere Konzentrationen Th-17-typischer Transkripte in T-bet-defizienten Mäusen festgestellt, wie der des IL-23-Rezeptors im Vergleich zu Wild-Typ-Mäusen (101).

Dass eine komplexe Beziehung zwischen T-bet und Th-17-Zellen besteht, ging auch aus einer neueren Studie hervor, die demonstrierte, dass T-bet für eine verbesserte Akkumulation von IL-23-konditionierten Th-17-Zellen in das ZNS verantwortlich sein könnte (56). Dementsprechend konnte eine beeinträchtigte Migration von T-bet-defizienten Th-17-Zellen in das ZNS beobachtet werden, die in Assoziation mit einer veränderten Expression von Adhäsionsmolekülen und Chemokinrezeptoren auf der Oberfläche von T-bet-defizienten Spender-T-Zellen einherging, wie dem $\alpha 4\beta 1$ -Integrin und CXCR3 (56). Interessanterweise wurde ebenfalls ein verzögerter EAE-Ausbruch bei Empfängern von T-bet-defizienten Spender-T-Zellen im Vergleich zu Wild-Typ-Spender-T-Zellen identifiziert (56). Somit könnte T-bet für eine erhöhte EAE-Schwere durch myelin-rekative CD4+T-Zellen ausschlaggebend sein (56). Zukünftige Forschungen werden zeigen, ob ein synergistischer Effekt zwischen den IFN- γ -induzierbaren T-bet und den IL-17-produzierenden T-Zellen besteht und ob T-bet an den pathologischen Wirkungen von Th-17-Zellen teilhat.

Zusammenfassend verfügen IL-17 und IFN- γ über zahlreiche synergistische Effekte, die von einer gesteigerten Pathogenität in der Rheumatoiden Arthritis (RA) bis hin zu protektiven Funktionen gegenüber schädlichen Erregern reichen.

Es wurde deutlich, dass IFN- γ für eine Induktion pathogener Zell-Interaktionsmoleküle zwischen rheumatoiden FLS und menschlichen Th-17-Zellen verantwortlich war (87). Im Gegensatz zum IFN- γ bewirkte IL-17 die ausgeprägte Induktion der proinflammatorischen Zytokine IL-6 und IL-8 aus rheumatoiden FLS. Die vermehrte Hochregulation der FLS-Zell-Interaktionsmolekülen CD54 und CD40 machte sich vor allem in einer vergrößerten FLS Reaktion auf IL-17 bemerkbar.

Weiterhin scheint IFN- γ eine entscheidende Rolle als Vermittler einer zweiseitig gerichteten Verstärkungsschleife zwischen FLS und T-Zellen zu agieren, indem es durch eine geregelte Expression von MHC-II, CD40 und CD54 eine effiziente Aktivierung beider Zellgruppen zulässt (87).

IFN- γ fungierte ebenfalls als wirksames Zytokin in einer Hochregulation der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 (42, 45, 80, 98, 148, 202, 224) und VCAM-1 (98, 102, 139) in Synergie mit TNF- α (80, 98, 102, 224), IL-1 β (42) oder IL-17 (45) auf verschiedenen Zelltypen. Beide Adhäsionsmoleküle wurden als wichtige Faktoren in einer dreistufigen Migrationskaskade identifiziert, die für eine Rekrutierung neuer Entzündungszellen zum betroffenen Gewebe erforderlich sind (133, 153, 252).

Neben einer Induktion von Adhäsionsmolekülen könnte IFN- γ andere Abschnitte der Migrationskaskade beeinflussen, sodass IFN- γ mit einer Expression der Chemokine CXCL9 (MIG) (98, 196, 230), IP-10 (CXCL10) (17, 98, 196, 230), MIP-1 α (CCL3) und MIP-1 β (CCL4) (17, 196), RANTES (CCL5) (17, 196, 230) und MCP-1 (17) am Aufbau eines chemotaktischen Gradienten Beteiligung finden könnte. Somit könnte IFN- γ als wichtiger Induktor von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen in einer Rekrutierung neuer Entzündungszellen zum jeweiligen Gewebe unter entzündeten oder physiologischen Bedingungen mitwirken.

Die synergistischen Wirkungen von IL-17 und IFN- γ umfassen nicht nur pathologische Effekte, sondern betrafen ebenfalls protektive Maßnahmen gegenüber spezifischen Erregern (147, 254). Es wurde deutlich, dass IFN- γ und IL-17 in synergistischer Weise zu

einer verstärkten iNOS-Expression (254) und damit assoziierten NO-Produktion (147, 254) in infizierten Makrophagen und Lungenepithel-Zellen (TC-1 Zellen) beitrugen und somit an einer Hemmung von Leishmania-Infektionen und Chlamydien-Lungeninfektionen (Cm) mitwirkten (147, 254). Auch unter nicht infizierten Umständen wurde eine Erhöhung der iNOS2-Expression und NO-Produktion in RAW 264.7-Zellen unter der synergistischen Wirkung von IL-17 und IFN- γ beobachtet (50).

Ein weiterer synergistischer Effekt von IFN- γ könnte auf die Wirkung seines linienspezifischen Transkriptionsfaktors T-bet zurückzuführen sein. Verschiedene Studien spekulieren, dass T-bet als übergreifenden Faktor in der Ausbildung von Th-1- und Th-17-Zellen agieren könnte.

Es wurde festgestellt, dass T-bet am Promotor des IL-23 Rezeptors bindet und dessen Transkription einleiten kann (53). Damit übereinstimmend demonstrierte eine andere Studie, dass das Einbringen einer hemmenden siRNA von T-bet eine verringerte Anzahl von IFN- γ - und IL-17-exprimierenden Zellen zur Folge hatte (241). Allerdings widerlegten viele Studien diese Vorstellung durch Nutzung von T-bet-defizienten Mäusen (59, 101, 170, 204, 219, 237, 243) und ektopischen Überexpressionen von T-bet (92, 101, 130, 219).

Dass eine komplexe Beziehung zwischen T-bet und Th-17-Zellen besteht, verdeutlichte eine neuere Studie, die demonstrierte, dass T-bet für eine verbesserte Akkumulation von IL-23-konditionierten Th-17-Zellen in das ZNS ausschlaggebend sein könnte (56).

8.2. Plastizität der T-Helfer-Zelluntergruppen

Entgegen der ursprünglichen Spekulation, dass jede T-Helfer-Zelluntergruppe einen festen Phänotyp darstellt, der mit einer Expression eines linienspezifischen Transkriptionsfaktors verbunden ist, wird zunehmend deutlich, dass T-Helfer-Zellen in Abhängigkeit vom umliegenden Zytokin-Milieu in andere T-Helfer-Zelluntergruppen umgewandelt werden können und einer erheblichen Flexibilität unterliegen (13, 18, 34, 69, 87, 105, 129, 152, 259). Die phänotypischen Expressionseigenschaften von T-Zellen werden durch die Induktion spezifischer Transkriptionsfaktoren und die Suppression alternativer Gene bestimmt (34). Allerdings ist solch eine Festlegung nicht irreversibel, so dass T-Zellen auf veränderte Umweltbedingungen reagieren können (34, 87, 106, 152, 154, 259).

Th-17-Zellen repräsentieren dieses Paradigma. Obwohl Th-17-Zellen die Signaturzytokine IL-17A und IL-17F produzieren, stellen sie eine heterogene Population mit verschiedenen dynamischen Phänotypen dar, einschließlich IL-17(+)IL-10(-) Zellen (131), IL-17(+)IFN- γ (+) Zellen (3, 35, 52, 119, 152, 219), IL-17(+)IL-21(+) Zellen, IL-17(+)IL-22(-) Zellen (256) oder IL-17(+)IL-10(+) Zellen (263). Es herrscht eine ausgeprägte Kontroverse, welche Untergruppe von menschlichen Th-17-Zellen für die Pathogenese von Autoimmunerkrankungen ausschlaggebend ist (87).

Nicht alle IL-17-produzierenden Lymphozyten scheinen pathogener Natur zu sein (176). Th-17-Zellen, die in der Gegenwart von TGF- β und IL-6 ohne Zutun von IL-23 in einem Modell der EAE polarisiert wurden, deuteten auf eine verringerte Pathogenität hin, trotz einer vorherrschenden Expression von IL-17 (131). Diese Zellen zeigten eine Expression von IL-10, einem Zytokin, das Entzündungsreaktionen hemmt. Erst durch eine weitere Stimulation mit IL-23, wandelten sich diese „protektiven“ Th-17-Zellen in „pathogene“ Th-17-Zellen um, die dann proinflammatorische Zytokine exprimierten, aber nicht mehr IL-10 (131). Mehrere Studien untermauerten, dass im Spezifischen Th-17-Zellen einer erheblichen Instabilität und Plastizität ausgesetzt sind, die sich bevorzugt im Auftreten von IFN- γ - und IL-17-co-exprimierenden T-Zellen (genannt Th-17/Th-1-Zellen) in zahlreichen Maus- und Mensch-spezifischen Autoimmunerkrankungen bemerkbar machte. Darauf basierend wurde eine komplexe Beziehung zwischen den Differenzierungsprogrammen von Th-17- und Th-1-Zellen vorgeschlagen (219, 259). Verschiedene in vivo- und in vitro-Versuche

verdeutlichten, dass Th-17-Zellen schnell ihre IL-17-Produktion aufgeben oder eine zusätzliche IFN- γ -Produktion erwerben konnten, um somit einen Th-17/Th-1- oder Th-1-ähnlichen Phänotyp anzunehmen (5, 13, 35, 69, 105, 106, 152, 154). Die Entstehung von co-exprimierenden-IL-17(+)IFN- γ (+)-T-Zellen und vollständig konvertierten Th-1-Zellen scheint von mehreren Faktoren mit stabilisierendem und destabilisierendem Potential abzuhängen, einschließlich IL-12 (35), IL-23 (69), TGF- β (52), TNF- α (125) und IFN- γ (106), und je nach Krankheitsbild, Versuchsmodell (in vitro oder in vivo) oder der umliegenden Mikroumgebung zu variieren.

Bedeutung von IL-12

Quellen zufolge neigten besonders in vitro kultivierte Th-17-Zellen zu einer gesteigerten Reprogrammierung zu einen Th-1-ähnlichen Phänotyp in Reaktion auf IL-12 (5, 13, 35, 103, 105, 152, 154). Eine andere Versuchsreihe berichtete von hochgereinigten Th-17-Zellen aus NOD.scid Mäusen, die sich in der Gegenwart von IL-12 zu einen IFN- γ -sezernierenden Phänotyp umwandelten (13). Vergleichbare Tendenzen wurden bei OT-II-CD4+T-Zellen beobachtet, die unter Th-17-polarisierenden Konditionen kultiviert und einer anschließenden Re-Stimulation mit IL-12 ausgesetzt wurden (103). In einer Studie zur Juvenilen idiopathischen Arthritis (JIA) wurde gezeigt, dass isolierte Th-17-Zellen von gesunden Probanden in einem Zytokinmilieu mit TGF- β -armen und IL-12-reichen Bedingungen, die den idiopathischen Gelenkraum imitierten, eine vermehrte Konvertierung zu doppel-produzierenden und Th-1-ähnlichen Phänotypen vollzogen (152). Ein weiterführendes Experiment der JIA konkretisierte diese Aussage. Dabei wurde eine Co-Kultivierung von Th-17-Zellen gesunder Probanden in Kombination mit der synovialen Gelenkflüssigkeit (SF) von JIA-Patienten oder einer alternativen IL-12-Stimulation mit dem Resultat durchgeführt, dass sowohl in der Gegenwart von IL-12 als auch von JIA-SF verringerte Auftretenshäufigkeiten von Th-17-Zellen und verstärkte Anteile von Th-17/Th-1- und Th-1-ähnlichen-Phänotypen auftraten (35). Die weitere Zugabe von Anti-IL-12 mAb zu Kulturen mit JIA-SF kehrte vollständig die modulierenden Effekte um, sodass tatsächlich ein Teil dieser Wirkung auf die Aktivität des Th-1-polarisierenden Zytokins IL-12 zurückzuführen sein könnte (35).

Interessanterweise traten fortschreitende Umwandlungen von in vitro-kultivierten Th-17-Zellen in Verbindung mit einer transkriptionellen Restaurierung auf, so dass unter Th-1-polarisierenden Konditionen oder in Reaktion auf IL-12 eine Verminderung von IL-17 und ROR- γ t stattfand, die von einer gleichzeitigen Hochregulation von T-bet und IFN- γ begleitet wurde (5, 13, 105, 154). Übereinstimmend mit den funktionellen Effekten von IL-12 auf voll-differenzierte Th-17-Zellen wurden nachweisbare Expressionen von IL-12R β 2 mRNA in isolierten Th-17-Zellen von IL-17F-Reportermäusen und NOD.scid Mäusen detektiert (13, 103). Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass eine Reaktionsfähigkeit von Th-17-Zellen auf IL-12 selbst nach einer vollständigen Differenzierung erhalten bleibt (103). Im Einklang mit dieser Beobachtung zeigten jüngste Berichte, dass ex vivo isolierte menschliche und Maus-spezifische Th-17/Th-1-Zellen über eine Co-expression von T-bet und ROR- γ t verfügten (5, 106, 152).

Dennoch gilt hervorzuheben, dass deutliche Unterschiede zwischen in vitro- und in vivo-generierten Th-17-Populationen bestehen (105, 106, 154). Trotz einer raschen Konvertierung von in vivo transferierten Th-17-Zellen zu einem Hybrid- oder Th-1-ähnlichen Phänotyp (13, 69, 103, 129, 154), schienen in vivo-generierte Th-17-Zellen einen stabileren Phänotyp als ihre in vitro-polarisierten Gegenstücke aufzuweisen (105, 106, 154). Ex vivo isolierte CD4⁺CD62(lo) Th-17-Gedächtniszellen aus BALB/c Mäusen waren resistenter gegenüber einer spontanen Umwandlung durch IL-12 und behielten ihr Differenzierungsprogramm bei (105). Adäquate Ergebnisse wurden bei einer Entnahme von Th-17-Zellen aus IL-17F-Reportermäusen erzielt (106). Im Gegensatz zu in vitro-erzeugten Th-17-Zellen, exprimierten ex vivo isolierte Th-17-Zellen stark verringerte Niveaus von IL-12R β 2-Transkripten (69, 106). Dieser Umstand weist auf eine konstitutive Unterdrückung der IL12r β 2-Expression unter in vivo generierten Bedingungen hin und könnte die beeinträchtigte Reaktionsbereitschaft von Th-17-Zellen auf IL-12 erklären (106).

Bedeutung von IFN- γ

Es wurde deutlich, dass für ex vivo isolierte Th-17-Zellen eine Synergie von IFN- γ und IL-12 erforderlich war, um eine Induktion von co-exprimierenden Th-17/Th-1-Zellen einzuleiten (106). Hierbei induzierte IFN- γ die gesteigerte Expression der IL-12R β 2-Kette und stellte die funktionelle Reaktionsfähigkeit auf IL-12 wieder her (106).

Eine erweiterte ex vivo-Untersuchung der EAE bekräftigte dieses Konzept (69). Sie illustrierte einerseits, dass doppel-positive Th-17/Th-1-Zellen eindeutig auf Th-17-transferierte Einzelproduzenten zurückzuführen waren (69). Andererseits wurde durch eine direkte Gegenüberstellung der Transkriptionsniveaus dieser Zellen klar ersichtlich, dass transferierte Th-17-Zellen während einer in vivo-Konvertierung *il12rβ2* und T-bet hochregulierten, wobei eine komplementäre Reduktion von ROR-γt und IL-17 stattfand (69). Diese Ergebnisse legen nahe, dass zwischen in vitro- und in vivo-erzeugten Th-17-Zellen epigenetische Unterschiede vorliegen (259).

Bedeutung von IL-23

Die stabilisierenden Eigenschaften von IL-23 sind gut dokumentiert. Ferner wurde vorgeschlagen, dass dieses Zytokin an einer Entwicklung doppel-produzierender Zellen teilhat (69, 103). Ein Transfer-Modell der Kolitis demonstrierte eine charakteristische Ansammlung von Th-1-, Th-17- und doppel-produzierenden Zellen in Mäusen (3). Bemerkenswerterweise trat eine signifikante Reduktion von IL-17(+)IFN-γ(+) Zellpopulationen bei Empfängern von IL-23R-defizienten T-Zellen im Darm ein (3).

Auch MOG-immunisierte IL-23p19-defiziente Mäuse zeigten in einem Modell der EAE eine deutlich Abnahme doppel-positiver- und einzel-sezernierender IFN-γ-Produzenten (69). Beim Ergründen der zuständigen Mechanismen, die für eine IL-23-vermittelte Abweichung in Richtung eines Th-1-ähnlichen Profils verantwortlich waren, wurde das Expressionsvermögen von T-bet in CD4+T-Zellen von Wild-Typ und IL-23p19-defizienten Reporter-mäusen untersucht. In der Abwesenheit von IL-23 konnte eine Hochregulation von T-bet in Th-17-Zellen verhindert werden. Dies könnte auf eine mögliche Rolle von IL-23 in einer Regulation von T-bet hindeuten (69). Damit übereinstimmend wiesen voll-differenzierte OT-II CD4+Th-17-Zellen der Maus nach einer in vitro-Kultivierung mit IL-23 eine zunehmende Anzahl IFN-γ-produzierender Zellen auf (103).

Diesen Daten stehen Ergebnisse aus verschiedenen in vitro Experimenten von Maus- und Mensch-spezifischen Th-17-Zellen gegenüber (5, 154). Hierbei fungierte IL-23 nicht nur im Rahmen einer Dämpfung destabilisierender Signale des IL-12 (5), sondern auch in einer Stabilisierung eines IL-17-sezernierenden Phänotyps (154). Ergänzend dazu war IL-23 nicht im Gelenkraum von JIA-Patienten vertreten und scheint demnach keinen wichtigen

Stellenwert in einer Gestaltung Th-17/Th-1-phänotypischer Zellen einzunehmen (152). Zusammengenommen deuten diese Daten darauf hin, dass IL-23 in Abhängigkeit von der umliegenden Mikroumgebung differenzielle Aufgaben erfüllt, die sowohl eine Aufrechterhaltung als auch eine Reprogrammierung eines Th-17-Phänotyps beinhalten können.

Bedeutung von TGF- β

Im Gegensatz zum IL-12 und IL-23 könnte TGF- β als stabilisierender Faktor in einer Aufrechterhaltung eines IL-17-produzierenden Phänotyps angesehen werden (52, 103, 105, 152). In einem in vitro Modell von aus IL-17F-Reportermäusen isolierten Th-17-Zellen hielt TGF- β die IL-17-Produktion aufrecht und reduzierte die reprogrammierenden Einflüsse von IL-12 und IL-23 (103).

Vergleichbare Tendenzen wurden bei menschlichen Th-17-Zellen detektiert (152). Unter den Einfluss von TGF- β stabilisierte sich der Th-17-Phänotyp, scheiterte aber daran, die Auswirkungen von IL-12 vollständig zu überwinden (152). Darüber hinaus konnten in der Gegenwart von TGF- β verminderte Konzentrationen der mRNAs von T-bet und GATA-3 festgestellt werden (52). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass TGF- β das Vorkommen von doppelt-produzierenden Th-17/Th-1-Zellen mindert, indem es die Expression alternativer linienspezifischer Transkriptionsfaktoren unterdrückt.

Bedeutung von TNF- α

Neben den zuvor erläuterten Zytokinen berichtete eine jüngere Studie der JIA über TNF- α als einen weiteren löslichen Faktor, der an einer Verlagerung von Th-17-Zellen geradewegs zu einem Th-1-ähnlichen Phänotyp beteiligt sein könnte (125). Spekulationen zu Folge könnten Th-17-Zellen selbst TNF- α produzieren, um den Übergang eines Th-1-ähnlichen Phänotyps über einen autokrinen und parakrinen Mechanismus anzutreiben (125).

Obwohl der pathologische Stellenwert von co-exprimierenden Zellen nach wie vor in Frage gestellt wird, korrelierten die Anteile von CD4+CD161+Th-17/Th-1-Zellen in der SF von JIA-Patienten positiv mit den Parametern der Krankheitsaktivität (35). Ausgehend von dieser Beobachtung, dass CD4+CD161+T-Zellen eine entscheidende Rolle in der JIA-Pathogenese spielen könnten, wurden phänotypische Untersuchungen von CD161+CD4+T-Zellen im

peripheren Blut aus unbehandelten und Etanercept- (Antikörper von TNF- α) behandelten JIA-Patienten durchgeführt, wobei erhöhte Anteile von Th-17-Zellen zu Gunsten verringerter Anzahlen von Th-1-ähnlichen- und Th-17/Th-1-doppelt-positiver Zellen in Antikörper-behandelten Kulturen einsetzten (125).

Es wurde gezeigt, dass exogenes TNF- α die Verschiebung von hoch gereinigten CD161+CD4+Th-17-Zellen aus peripherem Blut von gesunden Spendern in Richtung eines Th-1-ähnlichen-Phänotyps förderte (125). Im Einklang dazu untersuchte eine neuere Studie der RA die mRNA-Expressionsniveaus von IFN- γ , IL-17 und TNF- α in Patienten mit RA und ihre Korrelationen zueinander (144). Sie stellte eine positive Korrelation zwischen den Expressionsniveaus von TNF- α und IFN- γ fest, sowie eine negative zwischen den Expressionsniveaus von TNF- α und IL-17 sowie von IFN- γ und IL-17 (144). Im Falle einer positiven Korrelation von TNF- α und IFN- γ war die IL-17-Expression kaum nachweisbar (144). Demgegenüber wurde bei einer dominanten Expression von IL-17 nur eine geringe Expression von IFN- γ und eine kaum nachweisbare Expression von TNF- α festgestellt (144).

Diese Daten unterstützen die Vorstellung, dass IL-17-produzierende Zellen in Richtung eines nicht-klassischen Th-1-Phänotyps mit einer dominanten TNF- α und IFN- γ Expression wechseln könnten. Es ist schon seit längeren bekannt, dass TNF- α -Blockaden eine Besserung der klinischen Symptome, Laborparameter und des radiologischen Fortschreitens der JIA und RA (rheumatischen Arthritis) hervorrufen, allerdings wurden T-Zellen bisher nicht als wichtige Ziele dieser Behandlung angesehen (34). Interessanterweise wurde auch im Falle der RA eine reduzierte Th-17-Polarisation unter Anti-TNF- α -Therapie beobachtet (34).

Dies lässt die Hypothese zu, dass auch in diesem Krankheitsbild ein blockierter Übergang von Th-17-Zellen zu einem Th-17/Th-1- und Th-1-ähnlichen Phänotyp stattfinden könnte, um die stetige Progression der Entzündung einzuschränken. Dennoch gilt es zu erwähnen, dass auch der gegenteilige Effekt beobachtet wurde, so dass TNFi (TNF- α -Inhibitoren) bei Patienten mit RA nicht die mRNA-Expressionsniveaus von TNF- α , IFN- γ oder IL-17 im rheumatoiden Synovium beeinflussten (144).

Geradlinige Entwicklung zu nicht-klassischen Th-1-Zellen

Es wird angenommen, dass eine Verschiebung von Th-17-Zellen in Richtung einer Th-1-Untergruppe in menschlichen chronischen Entzündungszuständen mit dem Fortschreiten der Krankheit assoziiert ist (34). Diese Hypothese stimmt mit den Beobachtungen überein, dass Th-17-Zellen trotz ihres wichtigen Stellenwertes in zahlreichen Autoimmunerkrankungen, wie Multipler Sklerose, Morbus Chron oder der Rheumatischen Arthritis, nur schwer an den Entzündungsorten aufzuspüren sind (34). Die Seltenheit von Th-17-Zellen könnte durch ihre hohe Plastizität erklärt werden, die ihnen schnell erlaubt, IFN- γ zu produzieren und einen Th-1-ähnlichen-Phänotyp anzunehmen (Abb. 31) (34).

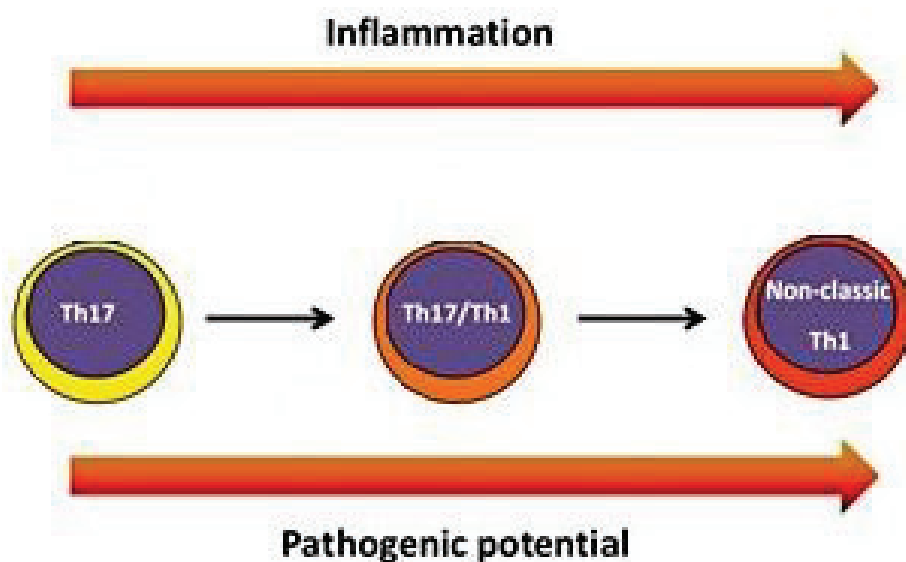


Abb. 31: Schematische Darstellung einer möglichen Entwicklungsplastizität von Th17-Zellen zu einen Th-1-ähnlichen Phänotyp, modifiziert nach (34).

Beim Menschen teilten Th-17-Zellen und IL-17(+)IFN- γ (+)-Zellen vom entzündlichen Gelenken aus Patienten mit JIA verschiedene T-Zell-Rezeptor-Klonalitäten (152). Dieser Befund unterstützt das Konzept einer Umwandlung von Th-17-Zellen in eine Th-17/Th-1-Untergruppe als ein reales Phänomen infolge eines Mangels an naiven CD4+T-Zellvorläufern in entzündeten Gelenken (87). Während in vielen menschlichen und Maus-spezifischen Autoimmunerkrankungen eine Konvertierung von Th-17- zu Th-1-Zellen stattfand (siehe oben), wurde von einer entgegengesetzten Umwandlung weder in der Maus noch im Menschen berichtet (87).

Epigenetische Modifikationen von Genen, die mit Zytokinen und Transkriptionsfaktoren jeder Untergruppe assoziiert waren, lieferten Einblicke in dieses Phänomen (228). Untersuchungen der Kodierungsorte von T-bet in Maus-spezifischen Th-17-Zellen belegten sowohl permissive (frei zugängliche) als auch repressive (nicht zugängliche) Histon-Modifikationen, während die Kodierungsorte von ROR- γ t und IL-17 in Th-1-Zellen ausschließlich repressive Marker enthielten (Abb. 32) (228). Darauf beruhend wäre es denkbar, dass Th-17-Zellen unter geeigneten Konditionen IFN- γ exprimieren, während eine Induktion des gegenteiligen Effektes in Th-1-Zellen eher unwahrscheinlich ist (87). Diese Vorstellung wurde weiter durch die Beobachtung unterstützt, dass Th-17-Zellen einen dynamischen epigenetischen Umbau erfuhren und Th-1-ähnliche Histonmodifikationen über den Kodierungsort von IFN- γ nach einer Stimulation mit IL-12 erwarben (138).

Der charakteristische Umschwung von Th-17-Zellen lässt auf eine lineare Entwicklungsplastizität vermuten, der co-exprimierende Th-17/Th-1-Zellen als Zwischenschritt in einer stetigen Umwandlung zu einen Th-1-ähnlichen Phänotyp vorsieht (Abb. 31) (35, 69, 152) - eine Hypothese, die in einem Kultivierungsversuch der JIA Bestätigung fand (35). Aus einer Untersuchung von CD161+Th-17-Zellen, CD161+Th-17/Th-1-Zellen und CD161+Th-1-ähnlichen Zellen aus dem peripheren Blut ging deutlich hervor, dass sich bei gesunden Probanden der hauptsächliche Anteil der Th-17-Zellen in Richtung eines Th-17/Th-1-Phänotyps bewegte (68 %), wobei nur ein geringer Teil einen Th-1-ähnlichen Phänotyp annahm (10 %) (35). Demgegenüber konvertierten Th-17-Zellen aus synovialer Flüssigkeit von JIA-Patienten zu Th-17/Th-1-Zellen (41%) oder zu einem Th-1-ähnlichen-Phänotyp (53 %) (35).

Basierend auf einer Reihe von Beobachtungen wurde vorgeschlagen, dass auch das Frühstadium der RA überwiegend von Th-17-Zellen dominiert wird, die sich allmählich zu Th-17/Th-1-Zellen umwandeln und schließlich von Th-1-ähnlichen-Zellen beherrscht werden (87).

Es sollte berücksichtigt werden, dass die funktionelle Heterogenität von Th-17-Zellen nicht nur aus pathologischer Sicht wichtig ist, sondern ebenfalls ein breites Spektrum biologischer Funktionen impliziert und die Effizienz von vielfältigen Mechanismen beeinflusst, einschließlich der Host-Verteidigung, Gewebsabwehr und Wundheilung (48).

Demnach wiesen differenzierte Tc17-Zellen aus naiven CD8+T-Zellen nur schwache zytotoxische Eigenschaften auf (206). Erst nach einer Kultivierung mit IL-12 und einer dadurch bedingten Konvertierung zu doppelt-produzierenden Tc17/IFN- γ -Zellen erlangten diese Zytotoxizität und eine ebenso starke Anti-Tumor-Aktivität wie Tc1-Zellen in vitro und in vivo (206). Dies lässt die Hypothese zu, dass Th-17-Populationen im Zuge eines spezifischen Erregerbefalls zu doppelt-produzierenden Zellen konvertieren könnten, um zusätzliche protektive Eigenschaften zu erhalten (Abb. 32).

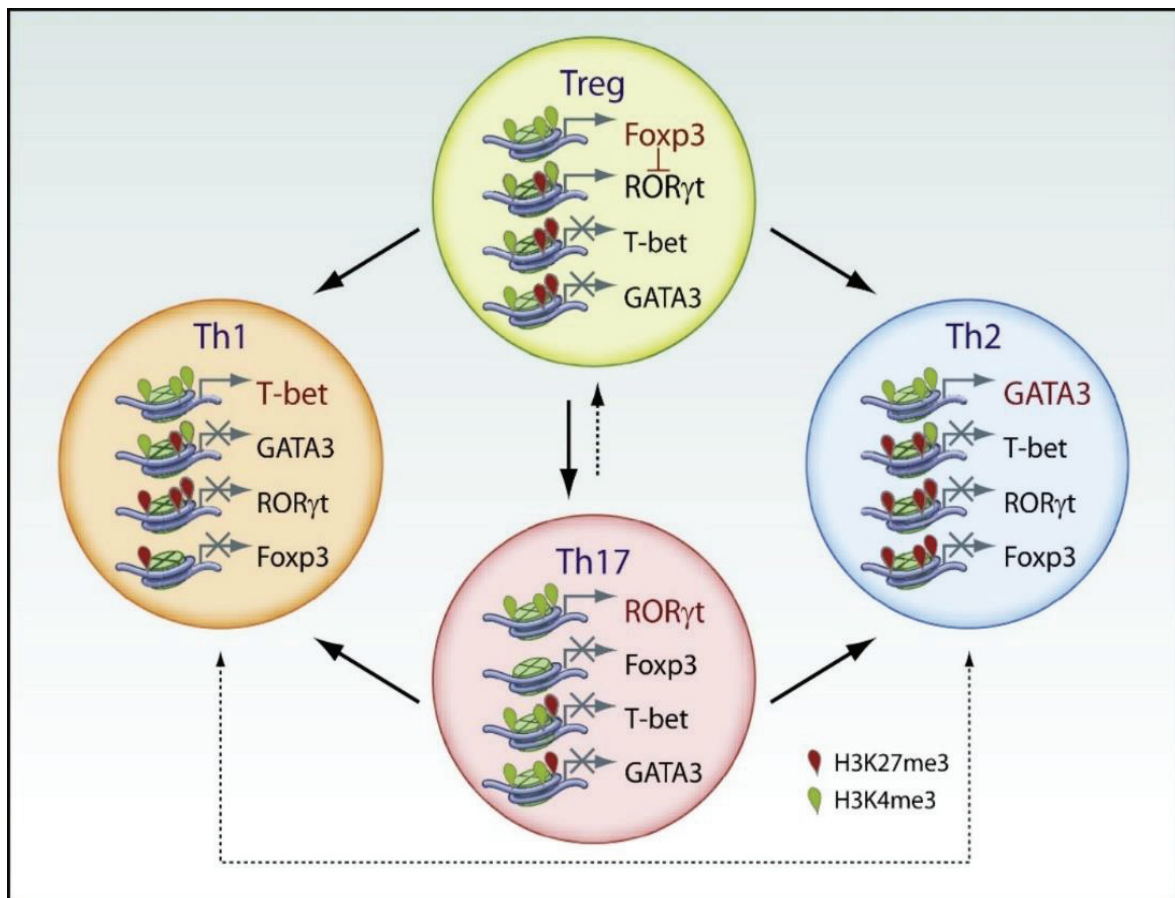


Abb. 32: Epigenetischer Status der linienspezifischen Masterregulatoren und ihrer zugehörigen Genorte in CD4 + T-Zellen, modifiziert aus (259).

Unter den vier Untergruppen von T-Zellen zeigten vor allem Treg-Zellen und Th17 Zellen die größte Neigung, zu anderen Phänotypen zu wechseln. Vieles deutet darauf hin, dass diese Plastizität auf bivalente epigenetische Zustände der verschiedenen linienspezifischen Masterregulator-Genorte zurückzuführen ist, d.h. ein gleichzeitiges Vorkommen von zugänglichen (grün) H3K4me3- und unzugänglichen (rot) H3K27me3-Histonmodifikationen. Dieser Umstand könnte eine plausible Erklärung für das Auftreten von Treg-Zellen mit ROR- γ t-Expression (221, 261), Th-2-Zellen mit T-bet Expression (172) oder IFN- γ (+) IL-17(+)-Zellen mit einer Co-expression von ROR- γ t und T-bet liefern (5, 106, 152).

Zusammenfassend zeigte sich, dass die verschiedenen T-Helfer-Zelluntergruppen einer erheblichen Flexibilität unterliegen und nicht wie ursprünglich angenommen, feste irreversible Phänotypen mit der Expression eines linienspezifischen Transkriptionsfaktors darstellen (13, 18, 34, 69, 87, 105, 129, 152, 259). Im Spezifischen sind Th-17-Zellen einer erheblichen Instabilität und Plastizität ausgesetzt, so dass eine Vielzahl von Phänotypen festgestellt wurden, einschließlich IL-17 (+)IL-10 (-) Zellen (131), IL-17(+)IFN- γ (+) Zellen (3, 35, 52, 119, 152, 219), IL-17(+) IL-21(+) Zellen, IL-17(+) IL-22(-) Zellen (256) oder IL-17(+) IL-10(+) Zellen (263). Es zeigte sich, dass einige dieser Phänotypen protektive Wirkungen vermitteln (131, 263), daher herrscht eine ausgeprägte Kontroverse, welche Untergruppe von menschlichen Th-17-Zellen für die Pathogenese von Autoimmunerkrankungen ausschlaggebend ist (87).

Verschiedene in vivo- und in vitro-Studien verdeutlichten, dass Th-17-Zellen schnell ihre IL-17-Produktion aufgeben oder eine zusätzliche IFN- γ -Produktion erwerben konnten, um somit einen Th-17/Th-1-oder Th-1-ähnlichen Phänotyp anzunehmen (5, 13, 35, 69, 105, 106, 152, 154). Die Entstehung von co-exprimierenden-IL-17(+)IFN- γ (+)-T-Zellen und vollständig konvertierten Th-1-Zellen scheint von mehreren Faktoren mit stabilisierendem und destabilisierendem Potential abzuhängen, einschließlich IL-12 (35), IL-23 (69), TGF- β (52), TNF- α (125) und IFN- γ (106), und je nach Krankheitsbild, Versuchsmodell (in vitro oder in vivo) oder der umliegenden Mikroumgebung zu variieren.

Es wird angenommen, dass eine Verschiebung von Th-17-Zellen in Richtung einer Th-1-Untergruppe in menschlichen chronischen Entzündungszuständen mit dem Fortschreiten der Krankheit assoziiert ist (34). Basierend auf den charakteristischen Umschwung von Th-17-Zellen wurde eine lineare Entwicklungsplastizität vorgeschlagen, die co-exprimierende Th-17/Th-1-Zellen als Zwischenschritt in einer stetigen Umwandlung zu einen Th-1-ähnlichen Phänotyp vorsieht (Abb. 31) (35, 69, 152). Trotz des wichtigen Stellenwertes von Th-17-Zellen in vielen Autoimmunerkrankungen, wie der Multiplen Sklerose, des Morbus Chron oder der Rheumatischen Arthritis, sind diese Zellen nur schwer am Entzündungsorten aufzuspüren (34). Die Seltenheit von Th-17-Zellen könnte durch ihre hohe Plastizität erklärt werden, die ihnen schnell erlaubt, IFN- γ zu produzieren und einen Th-1-ähnlichen Phänotyp anzunehmen (34).

Im Gegensatz zu Th-17-Zellen wurde von einer entgegengesetzten Umwandlung von Th-1-Zellen weder in der Maus noch im Menschen berichtet (87). Es wurde deutlich, dass T-bet in Maus-spezifischen Th-17-Zellen sowohl frei zugängliche als auch nicht zugängliche Histon-Modifikationen besaß, während die Kodierungsorte von ROR- γ t und IL-17 in Th-1-Zellen ausschließlich repressive Marker enthielten (Abb. 32) (228). Somit scheinen besonders Th-17-Zellen unter geeigneten Konditionen IFN- γ exprimieren zu können, während eine Induktion des gegenteiligen Effektes in Th-1-Zellen unwahrscheinlich ist (87).

Es sollte berücksichtigt werden, dass die funktionelle Heterogenität von Th-17-Zellen nicht nur aus pathologischer Sicht wichtig ist, sondern ebenfalls ein breites Spektrum biologischer Funktionen impliziert und die Effizienz von vielfältigen Mechanismen beeinflusst, einschließlich der Host-Verteidigung, Gewebsabwehr und Wundheilung (48).

9. Abkürzungsverzeichnis

A20	zinc finger protein A20
Act1	NF-κB activator 1
Aδ-Fasern	A-delta-Fasern
AHR.	aryl hydrocarbon receptor
AKT	Protein kinase B
anti-IFN-γ mAb	anti-IFN-gamma monoclonal antibodies
APC	Antigen-präsentierenden Zellen
ASF/SF2	alternative splicing factor/ serine-arginine protein splicing factor
B6-Maus	"C57 black 6" mouse
BALB/c	Albino Stamm der Maus
BATF	Basic leucine zipper transcription factor
BBB	Blut-Hirn-Schranke
Bcl6	B-cell lymphoma 6 protein
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BLIMP-1	B lymphocyte-induced maturation protein-1
B-Zellen	"Bursa fabricii"-Lymphozyten
Ca ²⁺	calcium ion
CaMKII	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II
CBAD	C/EBPβ-activation domain
CBP	CREB-Binding Protein
c-Cbl	Casitas B-lineage lymphoma
CCL2	Chemokine (C-C motif) ligand 2
CCL3	Chemokine (C-C motif) ligand 3
CCL12	Chemokine (C-C motif) ligand 12
CCL20	Chemokine (C-C motif) ligand 20
CCR6	Chemokine (C-C motif) receptor type 6
CD2	Cluster of Differentiation 2

CD4+-Zellen	Cluster of Differentiation-4-positive-Lymphozyten
CD8+	Cluster of Differentiation-8-positive-Lymphozyten
CD40	Cluster of Differentiation 40
CD54	Cluster of Differentiation 54
CD57BL/6 Mäuse	"C57 black 6" mouse
CDK9	cyclin dependent kinase 9
C/EBP δ	CCAAT-enhancer-binding protein δ
C/EBP β	CCAAT-enhancer-binding protein β
c-Fos	Fos proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit
CFA	Freund's Complete Adjuvant
CIA	Kollagen-induzierte Arthritis
c-Jun	Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit
CIITA	class II, major histocompatibility complex, transactivator
CREL	proto-oncogene c-Rel
CXCL1	Chemokine (C-X-C motif) ligand 1
CXCL2	Chemokine (C-X-C motif) ligand 2
CXCL8	Chemokine (C-X-C motif) ligand 8
CXCL9	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9
CXCL10	C-X-C motif chemokine 10
CXCL11	C-X-C motif chemokine 11
CXCR1/2	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor $\frac{1}{2}$
D1-Domäne	fibronectin-III-like domain 1
D2-Domäne	fibronectin-III-like domain 2
DCs	Dendritische Zelle
DRG	dorsal root ganglion
EAU	experimental autoimmune uveoretinitis
EAE	Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
E.coli	Escherichia coli
EGFP	enhanced green fluorescent protein

ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EL4-Zellen	Maus-Lymphom-Zelllinie
ENA-78	C-X-C motif chemokine 5
ERK	extracellular-signal regulated kinases
ERK $\frac{1}{2}$	extracellular-signal regulated kinase 1/2
Ets-1	ETS proto-oncogene 1, transcription factor
EV-RV	empty retrovirus expressing green fluorescent protein alone
FCD	Fokale kortikale Dysplasie
FLS	Fibroblast-like synoviocyte
FN1	membrane-distal fibronectin-III-like domain
FN2	membrane-proximal fibronectin-III-like domain
Foxp3	Forkhead-Box-Protein P3
Fyn	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Fyn
GAF	gamma-interferon activation factor
GAS	gamma-interferon-activation sites/sequence
GATA-3	Trans-acting T-cell-specific transcription factor 3
GDNF	Glial cell-derived neurotrophic factor
$\gamma\delta$ T-Zellen	gamma-delta-T-Zellen
Gfi-1	growth factor independent 1 transcriptional repressor
GM- CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GSK3 β	Glykogensynthase-Kinase 3 β
HAT	Histon Acetyltransferasen
HIF- α	Hypoxie-induzierter Faktor 1 Alpha
H3K4me3	Histone 3 lysine 4 trimethylation
H3K27me3	Histone 3 lysine 27 trimethylation
HEK293-Zellen	"Human Embryonic Kidney"-Zellen 293
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IFN- β	Interferon- β
IFN- γ	Interferon- γ

IFN- γ R1	Interferon-Gamma-Rezeptor1
IFN- γ R2	Interferon-Gamma Rezeptor 2
IFNGR1	Interferon-Gamma-Rezeptor-1
IFNGR2	Interferon-Gamma-Rezeptor-2
IFN- λ 1	Interferon Lambda 1
IFN- λ 2	Interferon Lambda 2
IFN- λ 3	Interferon Lambda 3
IgE	Immunglobulin E
I κ B	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor
I κ B-Kinasen	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor kinase
IKK α / β	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha/beta
IKKi-Kinase	induzierbare I κ B-Kinase
IL-17 RA	Interleukin 17-Rezeptor a
IL-1 β	Interleukin-1-beta
IL-1R	Interleukin 1-Rezeptor
IL-2	Interleukin 2
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin 8
IL-10	Interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
IL-12p35	Interleukin 12 subunit A
IL-12p40	Interleukin 12 subunit B
IL12p70	active heterodimer p70 Interleukin 12
IL-12R β 2	Interleukin 12 receptor subunit beta 2
IL-12R β 1	Interleukin 12 receptor subunit beta 1
IL-15	Interleukin 15
IL-17	Interleukin-17

IL-17F	Interleukin 17 F
IL-18	Interleukin-18
IL-21	Interleukin-21
IL-22	Interleukin 22
IL-23	Interleukin-23
IL-23R	Interleukin 23 Rezeptor
IL-23p19	Interleukin 23 subunit alpha
IL-26	Interleukin 26
IL-27	Interleukin 27
IL-28 A	Interleukin 28 A
IL-28 B	Interleukin 28 B
IL-29	Interleukin 29
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase-Isoform
iNOS2	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase-Isoform-2
IP-9	Interferon Gamma induziertes Protein 9
IP-10	Interferon Gamma induziertes Protein 10
IRF-4	Interferon-regulatorischer Faktor 4
IRF-1	Interferon-regulatorischer Faktor 1
IRF-8	Interferon-regulatorischer Faktor 8
IRF-9 (p48)	Interferon-regulatorischer Faktor 9, Protein 48
IRF-E	Interferon-regulatorischer Faktor E
ISGF3	Interferon-stimulated gene factor 3
ISRE	Interferon-stimulated response element
JAK	Januskinase
JAK1	Januskinase-1
JAK2	Januskinase-2
JIA	Juvenile idiopathische Arthritis
JNK	C-Jun-N-terminale Kinasen
Kb	Kilobasen

kDa	Kilodalton
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen 1
LFA3	Lymphocyte function-associated antigen 3
LTi-like cells	Lymphoid tissue inducer-like cells
LPS	Lipopolysaccharide
mAb	monoclonal antibodies
MAP-Kinasen	mitogen-activated-protein-Kinasen
MCP-1	Monocyte chemotactic protein 1
MEF	mouse embryonic fibroblasts
Mekk4	MAP kinase kinase kinase 4
µg/ml	Mikrogramm pro Milliliter
MHC-I	Hauptkompatibilitäts-Klasse-I-Komplex
MHC-II	Hauptkompatibilitäts-Klasse-II-Komplex
MIG	Monokine induced by gamma interferon
MIP-1 α	macrophage inflammatory protein 1-alpha
MIP-1 β	macrophage inflammatory protein-1 β
MIP-2	macrophage inflammatory protein 2-alpha
MIP-3 α	macrophage Inflammatory Protein-3
MKK1/2	mitogen-activated protein kinase kinase 1/2
MKK6	mitogen-activated protein kinase kinase 6
MMP1	matrix metalloproteinase 1
MMP3	matrix metalloproteinase 3
MOG	Myelin oligodendrocyte glycoprotein
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
MS	Multiple Sklerose
Mx-Protein	Interferon-induced GTP-binding protein Mx1
MyD88	Myeloid differentiation primary response gene 88
NAP-3	neutrophil-activating protein 3
NF- κ B	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells

NF- κ B-p65	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells Protein 65 subunit
NFATc2	Nuclear factor of activated T-cells 2
ng	nano-Gramm
NG2+	oligodendrocyte progenitor cells
NGF	nerve growth factor
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
NKT-Zellen	Natürliche-Killer-Thymus-Lymphozyten
NO	Stickstoffmonoxid
NOD.scid	Non-Obese Diabetic. Severe Combined Immunodeficiency
NOTCH1	Notch homolog 1, translocation-associated (Drosophila)
NPC	neural precursor cells
NSC	Neuronale Stammzellen
NSPC	neural stem/progenitor cells
p300	E1A binding protein p300
p38 MAPK	Protein38-mitogen-activated protein
PBMC	mononuklearen Zellen des peripheren Blutes
PCR	polymerase chain reaction
PD-L1	Programmed death-ligand 1
pERK	phosphorylierte extracellular-signal regulated kinase
PGE2	Prostaglandin E2
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen
PKB	Protein-Kinase B
PKC δ	protein kinase C delta
PKC ϵ	protein kinase C epsilon
PKR	IFN-induced double-stranded RNA-dependent protein kinase
PMA	phorbol 12-myristate 13-acetate
pSTAT1 (Y701)	phosphoryliertes STAT1 am Tyrosin 701
Pyk2	protein tyrosine kinase 2

RA	Rheumatoide Arthritis
Raf1	rapidly accelerated fibrosarcoma 1
RAG2	recombination-activating gene 2
RANKL	Receptor Activator of NF- κ B Ligand
RANTES	Chemokine (C-C motif) ligand 5
Rap1	Ras-related protein 1
RAW 264.7 Zellen	spezifische Makrophagen-Zelllinie der Maus
RELA	nuclear factor NF-kappa-B p65 subunit
ROR- α	retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha
RORC-luc	Rorc firefly luciferase reporter
ROR- γ t	retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma
ROS	reactive oxygen species
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
RUNX3	Runt-related transcription factor 3
SEFIR	similar expression to fibroblast growth factor genes and IL-17R
shAct1	novel lentiviral vector to knockdown Act1
siRNA	small interfering ribonucleic acid
si-scr	scrambled control-siRNA
siRNA STAT1	si-RNA knockdown of STAT1
siRNA STAT3	si-RNA knockdown of STAT3
SOCS1	Suppressor of cytokine signaling 1
SOCS3	Suppressor of cytokine signaling 3
Src	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase sarcoma
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
STAT1	Signal transducer and activator of transcription 1
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
STAT4	Signal transducer and activator of transcription 4
STAT5	Signal transducer and activator of transcription 5
STZ	Streptozotocin

SVZ	subventricular zone
TAB2	TGF-Beta Activated Kinase 1/MAP3K7 Binding Protein 2
TAB3	TGF-Beta Activated Kinase 1/MAP3K7 Binding Protein 3
TAK1	Transforming growth factor β -activated kinase 1
T-bet	T-box-expressed in T-cells
T-bet–RV	retrovirus expressing T-bet and green fluorescent protein
Tbx21	T-box transcription factor TBX21
TCR	T Cell Receptor
Tc17 cells	(IL)-17-producing CD8(+)T cells
TGF- β	Transforming Growth Faktor
Th-1-Zellen	Thymus-Helferzelle 1
Th-1 β -Zelle	Thymuslymphoidzellen unter Th-17-kultivierten Bedingungen
Th-2-Zellen	Thymus-Helferzelle 2
Th-17-Zellen	Thymus-Helferzelle 17
TLR-Rezeptoren	Toll-like Rezeptor
TRAF2	TNF Receptor Associated factor 2
TRAF5	TNF Receptor Associated Factor 5
TRAF6	TNF Receptor Associated Factor 6
Treg-Zellen	Regulatorische Thymuslymphozyten-Zelle
TRPV4	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 4
TNF- α	Tumornekrosefaktor
U/ml	unit per Milliliter
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VSV	vesikulärer Stomatitis-Virus
WT	Wild-Typ
ZNS	zentrales Nervensystem
ZO-1	Zonula occludens-1

10. Literaturverzeichnis

1. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. 2007. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol*, 8 (9):942-949.
2. Afkarian M, Sedy JR, Yang J, Jacobson NG, Cereb N, Yang SY, Murphy TL, Murphy KM. 2002. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4 $^{+}$ T cells. *Nat Immunol*, 3 (6):549-557.
3. Ahern PP, Schiering C, Buonocore S, McGeachy MJ, Cua DJ, Maloy KJ, Powrie F. 2010. Interleukin-23 drives intestinal inflammation through direct activity on T cells. *Immunity*, 33 (2):279-288.
4. Amento EP, Bhan AK, McCullagh KG, Krane SM. 1985. Influences of gamma interferon on synovial fibroblast-like cells. Ia induction and inhibition of collagen synthesis. *J Clin Invest*, 76 (2):837-848.
5. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, Parente E, Fili L, Ferri S, Frosali F, Giudici F, Romagnani P, Parronchi P, Tonelli F, Maggi E, Romagnani S. 2007. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med*, 204 (8):1849-1861.
6. Azizi G, Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. 2013. Th17 Cells in Immunopathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*, 16 (3):243-253.
7. Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. 1997. The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol*, 15:563-591.
8. Barnholt KE, Kota RS, Aung HH, Rutledge JC. 2009. Adenosine blocks IFN- γ -induced phosphorylation of STAT1 on serine 727 to reduce macrophage activation. *J Immunol*, 183 (10):6767-6777.
9. Bartok B, Firestein GS. 2010. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*, 233 (1):233-255.
10. Basso AS, Cheroutre H, Mucida D. 2009. More stories on Th17 cells. *Cell Res*, 19 (4):399-411.
11. Batten M, Li J, Yi S, Kljavin NM, Danilenko DM, Lucas S, Lee J, de Sauvage FJ, Ghilardi N. 2006. Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells. *Nat Immunol*, 7 (9):929-936.
12. Bedoya SK, Lam B, Lau K, Larkin J, 3rd. 2013. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clin Dev Immunol*, 2013:986789.
13. Bending D, De la Pena H, Veldhoen M, Phillips JM, Uyttenhove C, Stockinger B, Cooke A. 2009. Highly purified Th17 cells from BDC2.5NOD mice convert into Th1-like cells in NOD/SCID recipient mice. *J Clin Invest*, 119 (3):565-572.

14. Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. 2007. Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Curr Opin Immunol*, 19 (6):652-657.
15. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. 2006. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, 441 (7090):235-238.
16. Bluysen HA, Rastmanesh MM, Tilburgs C, Jie K, Wesseling S, Goumans MJ, Boer P, Joles JA, Braam B. 2010. IFN gamma-dependent SOCS3 expression inhibits IL-6-induced STAT3 phosphorylation and differentially affects IL-6 mediated transcriptional responses in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 299 (2):C354-362.
17. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. 1997. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol*, 15:749-795.
18. Bonelli M, Shih HY, Hirahara K, Singelton K, Laurence A, Poholek A, Hand T, Mikami Y, Vahedi G, Kanno Y, O'Shea JJ. 2014. Helper T cell plasticity: impact of extrinsic and intrinsic signals on transcriptomes and epigenomes. *Curr Top Microbiol Immunol*, 381:279-326.
19. Boniface K, Blom B, Liu YJ, de Waal Malefyt R. 2008. From interleukin-23 to T-helper 17 cells: human T-helper cell differentiation revisited. *Immunol Rev*, 226:132-146.
20. Bulek K, Liu C, Swaidani S, Wang L, Page RC, Gulen MF, Herjan T, Abbadi A, Qian W, Sun D, Lauer M, Hascall V, Misra S, Chance MR, Aronica M, Hamilton T, Li X. 2011. The inducible kinase IKKi is required for IL-17-dependent signaling associated with neutrophilia and pulmonary inflammation. *Nat Immunol*, 12 (9):844-852.
21. Bullard DC, Hurley LA, Lorenzo I, Sly LM, Beaudet AL, Staite ND. 1996. Reduced susceptibility to collagen-induced arthritis in mice deficient in intercellular adhesion molecule-1. *J Immunol*, 157 (7):3153-3158.
22. Burdeinick-Kerr R, Govindarajan D, Griffin DE. 2009. Noncytolytic clearance of sindbis virus infection from neurons by gamma interferon is dependent on Jak/STAT signaling. *J Virol*, 83 (8):3429-3435.
23. Cameron AA, Vansant G, Wu W, Carlo DJ, III CR. 2003. Identification of reciprocally regulated gene modules in regenerating dorsal root ganglion neurons and activated peripheral or central nervous system glia. *J Cell Biochem*, 88 (5):970-985.
24. Chang SH, Dong C. 2011. Signaling of interleukin-17 family cytokines in immunity and inflammation. *Cell Signal*, 23 (7):1069-1075.
25. Chen Y, Langrish CL, McKenzie B, Joyce-Shaikh B, Stumhofer JS, McClanahan T, Blumenschein W, Churakovsa T, Low J, Presta L, Hunter CA, Kastelein RA, Cua DJ. 2006a. Anti-IL-23 therapy inhibits multiple inflammatory pathways and ameliorates autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*, 116 (5):1317-1326.

26. Chen Z, Laurence A, O'Shea JJ. 2007. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in the control of Th17 differentiation. *Semin Immunol*, 19 (6):400-408.
27. Chen Z, Laurence A, Kanno Y, Pacher-Zavisin M, Zhu BM, Tato C, Yoshimura A, Hennighausen L, O'Shea JJ. 2006b. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 (21):8137-8142.
28. Chesler DA, Reiss CS. 2002. The role of IFN-gamma in immune responses to viral infections of the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev*, 13 (6):441-454.
29. Chin JE, Winterrowd GE, Krzesicki RF, Sanders ME. 1990. Role of cytokines in inflammatory synovitis. The coordinate regulation of intercellular adhesion molecule 1 and HLA class I and class II antigens in rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 33 (12):1776-1786.
30. Cho ML, Yoon CH, Hwang SY, Park MK, Min SY, Lee SH, Park SH, Kim HY. 2004. Effector function of type II collagen-stimulated T cells from rheumatoid arthritis patients: cross-talk between T cells and synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 50 (3):776-784.
31. Chong WP, van Panhuys N, Chen J, Silver PB, Jittayasothorn Y, Mattapallil MJ, Germain RN, Caspi RR. 2015. NK-DC crosstalk controls the autopathogenic Th17 response through an innate IFN-gamma-IL-27 axis. *J Exp Med*, 212 (10):1739-1752.
32. Chung HK, Lee IK, Kang H, Suh JM, Kim H, Park KC, Kim DW, Kim YK, Ro HK, Shong M. 2002. Statin inhibits interferon-gamma-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Exp Mol Med*, 34 (6):451-461.
33. Cortez DM, Feldman MD, Mummidi S, Valente AJ, Steffensen B, Vincenti M, Barnes JL, Chandrasekar B. 2007. IL-17 stimulates MMP-1 expression in primary human cardiac fibroblasts via p38 MAPK- and ERK1/2-dependent C/EBP-beta, NF-kappaB, and AP-1 activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 293 (6):H3356-3365.
34. Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. 2014. Th17 and non-classic Th1 cells in chronic inflammatory disorders: two sides of the same coin. *Int Arch Allergy Immunol*, 164 (3):171-177.
35. Cosmi L, Cimaz R, Maggi L, Santarlaschi V, Capone M, Borriello F, Frosali F, Querci V, Simonini G, Barra G, Piccinni MP, Liotta F, De Palma R, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. 2011. Evidence of the transient nature of the Th17 phenotype of CD4+CD161+ T cells in the synovial fluid of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*, 63 (8):2504-2515.
36. Cosmi L, De Palma R, Santarlaschi V, Maggi L, Capone M, Frosali F, Rodolico G, Querci V, Abbate G, Angeli R, Berrino L, Fambrini M, Caproni M, Tonelli F, Lazzeri E,

- Parronchi P, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. 2008. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161+CD4+ T cell precursor. *J Exp Med*, 205 (8):1903-1916.
37. Das Sarma J, Ciric B, Marek R, Sadhukhan S, Caruso ML, Shafagh J, Fitzgerald DC, Shindler KS, Rostami A. 2009. Functional interleukin-17 receptor A is expressed in central nervous system glia and upregulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation*, 6:14.
 38. de Almeida Nagata DE, Demoor T, Ptaschinski C, Ting HA, Jang S, Reed M, Mukherjee S, Lukacs NW. 2014. IL-27-mediated regulation of IL-17 controls the development of respiratory syncytial virus-associated pathogenesis. *Am J Pathol*, 184 (6):1807-1818.
 39. Diehl S, Anguita J, Hoffmeyer A, Zapton T, Ihle JN, Fikrig E, Rincon M. 2000. Inhibition of Th1 differentiation by IL-6 is mediated by SOCS1. *Immunity*, 13 (6):805-815.
 40. Diveu C, McGeachy MJ, Boniface K, Stumhofer JS, Sathe M, Joyce-Shaikh B, Chen Y, Tato CM, McClanahan TK, de Waal Malefyt R, Hunter CA, Cua DJ, Kastelein RA. 2009. IL-27 blocks ROR γ c expression to inhibit lineage commitment of Th17 cells. *J Immunol*, 182 (9):5748-5756.
 41. Dong C. 2011. Genetic controls of Th17 cell differentiation and plasticity. *Exp Mol Med*, 43 (1):1-6.
 42. Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. 1986. Induction by IL 1 and interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol*, 137 (1):245-254.
 43. Espinosa V, Rivera A. 2012. Cytokines and the regulation of fungus-specific CD4 T cell differentiation. *Cytokine*, 58 (1):100-106.
 44. Fantetti KN, Gray EL, Ganesan P, Kulkarni A, O'Donnell LA. 2016. Interferon gamma protects neonatal neural stem/progenitor cells during measles virus infection of the brain. *J Neuroinflammation*, 13 (1):107.
 45. Gabr MA, Jing L, Helbling AR, Sinclair SM, Allen KD, Shamji MF, Richardson WJ, Fitch RD, Setton LA, Chen J. 2011. Interleukin-17 synergizes with IFN γ or TNF α to promote inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells. *J Orthop Res*, 29 (1):1-7.
 46. Gaffen SL. 2009. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat Rev Immunol*, 9 (8):556-567.
 47. Gaffen SL. 2011. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr Opin Immunol*, 23 (5):613-619.
 48. Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. 2014. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol*, 14 (9):585-600.

49. Gao B, Wang H, Lafdil F, Feng D. 2012. STAT proteins - key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver. *J Hepatol*, 57 (2):430-441.
50. Gao Q, Liu Y, Wu Y, Zhao Q, Wang L, Gao S, Wen W, Zhang W, Guo N, Zhou J, Yuan Z. 2016. IL-17 intensifies IFN-gamma-induced NOS2 upregulation in RAW 264.7 cells by further activating STAT1 and NF-kappaB. *Int J Mol Med*, 37 (2):347-358.
51. Garcia CS, Curiel RE, Mwatibo JM, Pestka S, Li H, Espinoza-Delgado I. 2006. The antineoplastic agent bryostatin-1 differentially regulates IFN-gamma receptor subunits in monocytic cells: transcriptional and posttranscriptional control of IFN-gamma R2. *J Immunol*, 177 (4):2707-2716.
52. Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, Ramos HL, Wei L, Davidson TS, Bouladoux N, Grainger JR, Chen Q, Kanno Y, Watford WT, Sun HW, Eberl G, Shevach EM, Belkaid Y, Cua DJ, Chen W, O'Shea JJ. 2010. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF-beta signalling. *Nature*, 467 (7318):967-971.
53. Gocke AR, Cravens PD, Ben LH, Hussain RZ, Northrop SC, Racke MK, Lovett-Racke AE. 2007. T-bet regulates the fate of Th1 and Th17 lymphocytes in autoimmunity. *J Immunol*, 178 (3):1341-1348.
54. Gough DJ, Levy DE, Johnstone RW, Clarke CJ. 2008. IFNgamma signaling-does it mean JAK-STAT? *Cytokine Growth Factor Rev*, 19 (5-6):383-394.
55. Grenningloh R, Kang BY, Ho IC. 2005. Ets-1, a functional cofactor of T-bet, is essential for Th1 inflammatory responses. *J Exp Med*, 201 (4):615-626.
56. Grifka-Walk HM, Segal BM. 2016. T-bet promotes the accumulation of encephalitogenic Th17 cells in the CNS. *J Neuroimmunol*.
57. Gu C, Wu L, Li X. 2013. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine*, 64 (2):477-485.
58. Habash T, Saleh A, Roy Chowdhury SK, Smith DR, Fernyhough P. 2015. The proinflammatory cytokine, interleukin-17A, augments mitochondrial function and neurite outgrowth of cultured adult sensory neurons derived from normal and diabetic rats. *Exp Neurol*, 273:177-189.
59. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT. 2005. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol*, 6 (11):1123-1132.
60. Hartupée J, Liu C, Novotny M, Li X, Hamilton T. 2007. IL-17 enhances chemokine gene expression through mRNA stabilization. *J Immunol*, 179 (6):4135-4141.
61. Haynes BF, Grover BJ, Whichard LP, Hale LP, Nunley JA, McCollum DE, Singer KH. 1988. Synovial microenvironment-T cell interactions. Human T cells bind to fibroblast-like synovial cells in vitro. *Arthritis Rheum*, 31 (8):947-955.

62. He JJ, Li S, Shu HF, Yu SX, Liu SY, Yin Q, Yang H. 2013. The interleukin 17 system in cortical lesions in focal cortical dysplasias. *J Neuropathol Exp Neurol*, 72 (2):152-163.
63. Heintzman ND, Hon GC, Hawkins RD, Kheradpour P, Stark A, Harp LF, Ye Z, Lee LK, Stuart RK, Ching CW, Ching KA, Antosiewicz-Bourget JE, Liu H, Zhang X, Green RD, Lobanenkov VV, Stewart R, Thomson JA, Crawford GE, Kellis M, Ren B. 2009. Histone modifications at human enhancers reflect global cell-type-specific gene expression. *Nature*, 459 (7243):108-112.
64. Hikawa N, Ishikawa Y, Takenaka T. 2004. Interleukin-12 p40-homodimer production in sensory dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience*, 129 (1):75-83.
65. Hindinger C, Bergmann CC, Hinton DR, Phares TW, Parra GI, Hussain S, Savarin C, Atkinson RD, Stohlman SA. 2012. IFN-gamma signaling to astrocytes protects from autoimmune mediated neurological disability. *PLoS One*, 7 (7):e42088.
66. Hirahara K, Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Kanno Y, O'Shea JJ. 2010. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev*, 21 (6):425-434.
67. Hirahara K, Ghoreschi K, Yang XP, Takahashi H, Laurence A, Vahedi G, Sciume G, Hall AO, Dupont CD, Francisco LM, Chen Q, Tanaka M, Kanno Y, Sun HW, Sharpe AH, Hunter CA, O'Shea JJ. 2012. Interleukin-27 priming of T cells controls IL-17 production in trans via induction of the ligand PD-L1. *Immunity*, 36 (6):1017-1030.
68. Hirota K, Hashimoto M, Yoshitomi H, Tanaka S, Nomura T, Yamaguchi T, Iwakura Y, Sakaguchi N, Sakaguchi S. 2007. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17+ Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med*, 204 (1):41-47.
69. Hirota K, Duarte JH, Veldhoen M, Hornsby E, Li Y, Cua DJ, Ahlfors H, Wilhelm C, Tolaini M, Menzel U, Garefalaki A, Potocnik AJ, Stockinger B. 2011. Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. *Nat Immunol*, 12 (3):255-263.
70. Ho AW, Gaffen SL. 2010. IL-17RC: a partner in IL-17 signaling and beyond. *Semin Immunopathol*, 32 (1):33-42.
71. Hu X, Ivashkiv LB. 2009. Cross-regulation of signaling pathways by interferon-gamma: implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*, 31 (4):539-550.
72. Huang F, Kao CY, Wachi S, Thai P, Ryu J, Wu R. 2007. Requirement for both JAK-mediated PI3K signaling and ACT1/TRAF6/TAK1-dependent NF-kappaB activation by IL-17A in enhancing cytokine expression in human airway epithelial cells. *J Immunol*, 179 (10):6504-6513.
73. Huang G, Wang Y, Chi H. 2012. Regulation of TH17 cell differentiation by innate immune signals. *Cell Mol Immunol*, 9 (4):287-295.

74. Hwang ES. 2010. Transcriptional regulation of T helper 17 cell differentiation. *Yonsei Med J*, 51 (4):484-491.
75. Hwang SY, Kim JY, Kim KW, Park MK, Moon Y, Kim WU, Kim HY. 2004. IL-17 induces production of IL-6 and IL-8 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via NF-kappaB- and PI3-kinase/Akt-dependent pathways. *Arthritis Res Ther*, 6 (2):R120-128.
76. Irmiler IM, Gajda M, Brauer R. 2007. Exacerbation of antigen-induced arthritis in IFN-gamma-deficient mice as a result of unrestricted IL-17 response. *J Immunol*, 179 (9):6228-6236.
77. Ivanov, II, Zhou L, Littman DR. 2007. Transcriptional regulation of Th17 cell differentiation. *Semin Immunol*, 19 (6):409-417.
78. Ivanov, II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. 2006. The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*, 126 (6):1121-1133.
79. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. 2011. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. *Scand J Immunol*, 74 (1):1-13.
80. Jahnke A, Johnson JP. 1994. Synergistic activation of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) by TNF-alpha and IFN-gamma is mediated by p65/p50 and p65/c-Rel and interferon-responsive factor Stat1 alpha (p91) that can be activated by both IFN-gamma and IFN-alpha. *FEBS Lett*, 354 (2):220-226.
81. Johnson HM, Noon-Song E, Ahmed CM. 2011. Controlling Nuclear Jaks and Stats for Specific Gene Activation by Ifn gamma and Other Cytokines: A Possible Steroid-like Connection. *J Clin Cell Immunol*, 2 (4).
82. Kamiya S, Okumura M, Chiba Y, Fukawa T, Nakamura C, Nimura N, Mizuguchi J, Wada S, Yoshimoto T. 2011. IL-27 suppresses RANKL expression in CD4+ T cells in part through STAT3. *Immunol Lett*, 138 (1):47-53.
83. Kamiya S, Owaki T, Morishima N, Fukai F, Mizuguchi J, Yoshimoto T. 2004. An indispensable role for STAT1 in IL-27-induced T-bet expression but not proliferation of naive CD4+ T cells. *J Immunol*, 173 (6):3871-3877.
84. Kang Z, Wang C, Zepp J, Wu L, Sun K, Zhao J, Chandrasekharan U, DiCorleto PE, Trapp BD, Ransohoff RM, Li X. 2013. Act1 mediates IL-17-induced EAE pathogenesis selectively in NG2+ glial cells. *Nat Neurosci*, 16 (10):1401-1408.
85. Kang Z, Altuntas CZ, Gulen MF, Liu C, Giltiay N, Qin H, Liu L, Qian W, Ransohoff RM, Bergmann C, Stohlman S, Tuohy VK, Li X. 2010. Astrocyte-restricted ablation of interleukin-17-induced Act1-mediated signaling ameliorates autoimmune encephalomyelitis. *Immunity*, 32 (3):414-425.

86. Kanno Y, Vahedi G, Hirahara K, Singleton K, O'Shea JJ. 2012. Transcriptional and epigenetic control of T helper cell specification: molecular mechanisms underlying commitment and plasticity. *Annu Rev Immunol*, 30:707-731.
87. Kato H, Endres J, Fox DA. 2013. The roles of IFN-gamma versus IL-17 in pathogenic effects of human Th17 cells on synovial fibroblasts. *Mod Rheumatol*, 23 (6):1140-1150.
88. Kawanokuchi J, Shimizu K, Nitta A, Yamada K, Mizuno T, Takeuchi H, Suzumura A. 2008. Production and functions of IL-17 in microglia. *J Neuroimmunol*, 194 (1-2):54-61.
89. Khan D, Ansar Ahmed S. 2015. Regulation of IL-17 in autoimmune diseases by transcriptional factors and microRNAs. *Front Genet*, 6:236.
90. Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, Cylwik JP, Cylwik B, Skowronski J, Chwiecko J. 2002. Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Ann Rheum Dis*, 61 (9):804-809.
91. Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y. 2006. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*, 177 (1):566-573.
92. Kondo Y, Iizuka M, Wakamatsu E, Yao Z, Tahara M, Tsuboi H, Sugihara M, Hayashi T, Yoh K, Takahashi S, Matsumoto I, Sumida T. 2012. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum*, 64 (1):162-172.
93. Korn T, Oukka M, Kuchroo V, Bettelli E. 2007. Th17 cells: effector T cells with inflammatory properties. *Semin Immunol*, 19 (6):362-371.
94. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*, 27:485-517.
95. Krause CD, Lavnikova N, Xie J, Mei E, Mirochnitchenko OV, Jia Y, Hochstrasser RM, Pestka S. 2006. Preassembly and ligand-induced restructuring of the chains of the IFN-gamma receptor complex: the roles of Jak kinases, Stat1 and the receptor chains. *Cell Res*, 16 (1):55-69.
96. Krstic J, Obradovic H, Kukolj T, Mojsilovic S, Okic-Dordevic I, Bugarski D, Santibanez JF. 2015. An Overview of Interleukin-17A and Interleukin-17 Receptor A Structure, Interaction and Signaling. *Protein Pept Lett*, 22 (7):570-578.
97. Krzesicki RF, Fleming WE, Winterrowd GE, Hatfield CA, Sanders ME, Chin JE. 1991. T lymphocyte adhesion to human synovial fibroblasts. Role of cytokines and the interaction between intercellular adhesion molecule 1 and CD11a/CD18. *Arthritis Rheum*, 34 (10):1245-1253.

98. Kunis G, Baruch K, Rosenzweig N, Kertser A, Miller O, Berkutzki T, Schwartz M. 2013. IFN-gamma-dependent activation of the brain's choroid plexus for CNS immune surveillance and repair. *Brain*, 136 (Pt 11):3427-3440.
99. Laurence A, Amarnath S, Mariotti J, Kim YC, Foley J, Eckhaus M, O'Shea JJ, Fowler DH. 2012. STAT3 transcription factor promotes instability of nTreg cells and limits generation of iTreg cells during acute murine graft-versus-host disease. *Immunity*, 37 (2):209-222.
100. Laurence A, Tato CM, Davidson TS, Kanno Y, Chen Z, Yao Z, Blank RB, Meylan F, Siegel R, Hennighausen L, Shevach EM, O'Shea J J. 2007. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity*, 26 (3):371-381.
101. Lazarevic V, Chen X, Shim JH, Hwang ES, Jang E, Bolm AN, Oukka M, Kuchroo VK, Glimcher LH. 2011. T-bet represses T(H)17 differentiation by preventing Runx1-mediated activation of the gene encoding RORgammat. *Nat Immunol*, 12 (1):96-104.
102. Lechleitner S, Gille J, Johnson DR, Petzelbauer P. 1998. Interferon enhances tumor necrosis factor-induced vascular cell adhesion molecule 1 (CD106) expression in human endothelial cells by an interferon-related factor 1-dependent pathway. *J Exp Med*, 187 (12):2023-2030.
103. Lee YK, Turner H, Maynard CL, Oliver JR, Chen D, Elson CO, Weaver CT. 2009. Late developmental plasticity in the T helper 17 lineage. *Immunity*, 30 (1):92-107.
104. Lees JR, Golumbek PT, Sim J, Dorsey D, Russell JH. 2008. Regional CNS responses to IFN-gamma determine lesion localization patterns during EAE pathogenesis. *J Exp Med*, 205 (11):2633-2642.
105. Lexberg MH, Taubner A, Forster A, Albrecht I, Richter A, Kamradt T, Radbruch A, Chang HD. 2008. Th memory for interleukin-17 expression is stable in vivo. *Eur J Immunol*, 38 (10):2654-2664.
106. Lexberg MH, Taubner A, Albrecht I, Lepenies I, Richter A, Kamradt T, Radbruch A, Chang HD. 2010. IFN-gamma and IL-12 synergize to convert in vivo generated Th17 into Th1/Th17 cells. *Eur J Immunol*, 40 (11):3017-3027.
107. Li Z, Li K, Zhu L, Kan Q, Yan Y, Kumar P, Xu H, Rostami A, Zhang GX. 2013. Inhibitory effect of IL-17 on neural stem cell proliferation and neural cell differentiation. *BMC Immunol*, 14:20.
108. Lighvani AA, Frucht DM, Jankovic D, Yamane H, Aliberti J, Hissong BD, Nguyen BV, Gadina M, Sher A, Paul WE, O'Shea JJ. 2001. T-bet is rapidly induced by interferon-gamma in lymphoid and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98 (26):15137-15142.

109. Lin W, Lin Y. 2010. Interferon-gamma inhibits central nervous system myelination through both STAT1-dependent and STAT1-independent pathways. *J Neurosci Res*, 88 (12):2569-2577.
110. Lin Y, Zhang JC, Yao CY, Wu Y, Abdelgawad AF, Yao SL, Yuan SY. 2016. Critical role of astrocytic interleukin-17 A in post-stroke survival and neuronal differentiation of neural precursor cells in adult mice. *Cell Death Dis*, 7 (6):e2273.
111. Liu C, Qian W, Qian Y, Giltiay NV, Lu Y, Swaidani S, Misra S, Deng L, Chen ZJ, Li X. 2009. Act1, a U-box E3 ubiquitin ligase for IL-17 signaling. *Sci Signal*, 2 (92):ra63.
112. Liu X, Ren S, Qu X, Ge C, Cheng K, Zhao RC. 2015. Mesenchymal stem cells inhibit Th17 cells differentiation via IFN-gamma-mediated SOCS3 activation. *Immunol Res*, 61 (3):219-229.
113. Liu C, Swaidani S, Qian W, Kang Z, Sun P, Han Y, Wang C, Gulen MF, Yin W, Zhang C, Fox PL, Aronica M, Hamilton TA, Misra S, Deng J, Li X. 2011. A CC' loop decoy peptide blocks the interaction between Act1 and IL-17RA to attenuate IL-17- and IL-25-induced inflammation. *Sci Signal*, 4 (197):ra72.
114. Liu H, Rohowsky-Kochan C. 2011. Interleukin-27-mediated suppression of human Th17 cells is associated with activation of STAT1 and suppressor of cytokine signaling protein 1. *J Interferon Cytokine Res*, 31 (5):459-469.
115. Liu J, Guan X, Ma X. 2007. Regulation of IL-27 p28 gene expression in macrophages through MyD88- and interferon-gamma-mediated pathways. *J Exp Med*, 204 (1):141-152.
116. Liu Q, Xin W, He P, Turner D, Yin J, Gan Y, Shi FD, Wu J. 2014. Interleukin-17 inhibits adult hippocampal neurogenesis. *Sci Rep*, 4:7554.
117. Liu X, Ye L, Bai Y, Mojidi H, Simister NE, Zhu X. 2008a. Activation of the JAK/STAT-1 signaling pathway by IFN-gamma can down-regulate functional expression of the MHC class I-related neonatal Fc receptor for IgG. *J Immunol*, 181 (1):449-463.
118. Liu Y, Stewart KN, Bishop E, Marek CJ, Kluth DC, Rees AJ, Wilson HM. 2008b. Unique expression of suppressor of cytokine signaling 3 is essential for classical macrophage activation in rodents in vitro and in vivo. *J Immunol*, 180 (9):6270-6278.
119. Lohr J, Knoechel B, Wang JJ, Villarino AV, Abbas AK. 2006. Role of IL-17 and regulatory T lymphocytes in a systemic autoimmune disease. *J Exp Med*, 203 (13):2785-2791.
120. Lovett-Racke AE, Yang Y, Racke MK. 2011. Th1 versus Th17: are T cell cytokines relevant in multiple sclerosis? *Biochim Biophys Acta*, 1812 (2):246-251.
121. Lubberts E. 2008. IL-17/Th17 targeting: on the road to prevent chronic destructive arthritis? *Cytokine*, 41 (2):84-91.
122. Lubberts E. 2010. Th17 cytokines and arthritis. *Semin Immunopathol*, 32 (1):43-53.

123. Lundy SK, Sarkar S, Tesmer LA, Fox DA. 2007. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. T lymphocytes. *Arthritis Res Ther*, 9 (1):202.
124. Ma X, Reynolds SL, Baker BJ, Li X, Benveniste EN, Qin H. 2010. IL-17 enhancement of the IL-6 signaling cascade in astrocytes. *J Immunol*, 184 (9):4898-4906.
125. Maggi L, Cimaz R, Capone M, Santarlaschi V, Querci V, Simonini G, Nencini F, Liotta F, Romagnani S, Maggi E, Annunziato F, Cosmi L. 2014. Brief report: etanercept inhibits the tumor necrosis factor alpha-driven shift of Th17 lymphocytes toward a nonclassic Th1 phenotype in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 66 (5):1372-1377.
126. Mai J, Wang H, Yang XF. 2010. Th 17 cells interplay with Foxp3+ Tregs in regulation of inflammation and autoimmunity. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 15:986-1006.
127. Manel N, Unutmaz D, Littman DR. 2008. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgamma. *Nat Immunol*, 9 (6):641-649.
128. Mao LY, Ding J, Peng WF, Ma Y, Zhang YH, Fan W, Wang X. 2013. Interictal interleukin-17A levels are elevated and correlate with seizure severity of epilepsy patients. *Epilepsia*, 54 (9):e142-145.
129. Martin-Orozco N, Chung Y, Chang SH, Wang YH, Dong C. 2009. Th17 cells promote pancreatic inflammation but only induce diabetes efficiently in lymphopenic hosts after conversion into Th1 cells. *Eur J Immunol*, 39 (1):216-224.
130. Mathur AN, Chang HC, Zisoulis DG, Kapur R, Belladonna ML, Kansas GS, Kaplan MH. 2006. T-bet is a critical determinant in the instability of the IL-17-secreting T-helper phenotype. *Blood*, 108 (5):1595-1601.
131. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. 2007. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol*, 8 (12):1390-1397.
132. McGeachy MJ, Chen Y, Tato CM, Laurence A, Joyce-Shaikh B, Blumenschein WM, McClanahan TK, O'Shea JJ, Cua DJ. 2009. The interleukin 23 receptor is essential for the terminal differentiation of interleukin 17-producing effector T helper cells in vivo. *Nat Immunol*, 10 (3):314-324.
133. Mellado M, Martinez-Munoz L, Cascio G, Lucas P, Pablos JL, Rodriguez-Frade JM. 2015. T Cell Migration in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol*, 6:384.
134. Min DJ, Cho ML, Lee SH, Min SY, Kim WU, Min JK, Park SH, Cho CS, Kim HY. 2004. Augmented production of chemokines by the interaction of type II collagen-reactive T cells with rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 50 (4):1146-1155.

135. Moon SJ, Park JS, Heo YJ, Kang CM, Kim EK, Lim MA, Ryu JG, Park SJ, Park KS, Sung YC, Park SH, Kim HY, Min JK, Cho ML. 2013. In vivo action of IL-27: reciprocal regulation of Th17 and Treg cells in collagen-induced arthritis. *Exp Mol Med*, 45:e46.
136. Morales-Ducret J, Wayner E, Elices MJ, Alvaro-Gracia JM, Zvaifler NJ, Firestein GS. 1992. Alpha 4/beta 1 integrin (VLA-4) ligands in arthritis. Vascular cell adhesion molecule-1 expression in synovium and on fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol*, 149 (4):1424-1431.
137. Moynes DM, Vanner SJ, Lomax AE. 2014. Participation of interleukin 17A in neuroimmune interactions. *Brain Behav Immun*, 41:1-9.
138. Mukasa R, Balasubramani A, Lee YK, Whitley SK, Weaver BT, Shibata Y, Crawford GE, Hatton RD, Weaver CT. 2010. Epigenetic instability of cytokine and transcription factor gene loci underlies plasticity of the T helper 17 cell lineage. *Immunity*, 32 (5):616-627.
139. Murakami S, Morioka T, Nakagawa Y, Suzuki Y, Arakawa M, Oite T. 2001. Expression of adhesion molecules by cultured human glomerular endothelial cells in response to cytokines: comparison to human umbilical vein and dermal microvascular endothelial cells. *Microvasc Res*, 62 (3):383-391.
140. Murphy SP, Tayade C, Ashkar AA, Hatta K, Zhang J, Croy BA. 2009. Interferon gamma in successful pregnancies. *Biol Reprod*, 80 (5):848-859.
141. Murugaiyan G, Mittal A, Weiner HL. 2010. Identification of an IL-27/osteopontin axis in dendritic cells and its modulation by IFN-gamma limits IL-17-mediated autoimmune inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107 (25):11495-11500.
142. Mus AM, Cornelissen F, Asmawidjaja PS, van Hamburg JP, Boon L, Hendriks RW, Lubberts E. 2010. Interleukin-23 promotes Th17 differentiation by inhibiting T-bet and FoxP3 and is required for elevation of interleukin-22, but not interleukin-21, in autoimmune experimental arthritis. *Arthritis Rheum*, 62 (4):1043-1050.
143. Nakae S, Iwakura Y, Suto H, Galli SJ. 2007. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17. *J Leukoc Biol*, 81 (5):1258-1268.
144. Nakajima A, Aoki Y, Sonobe M, Watanabe F, Takahashi H, Saito M, Nakagawa K. 2016. Relative expression and correlation of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma, and interleukin-17 in the rheumatoid synovium. *Clin Rheumatol*, 35 (7):1691-1697.
145. Nakatsuka K, Tanaka Y, Hubscher S, Abe M, Wake A, Saito K, Morimoto I, Eto S. 1997. Rheumatoid synovial fibroblasts are stimulated by the cellular adhesion to T cells through lymphocyte function associated antigen-1/intercellular adhesion molecule-1. *J Rheumatol*, 24 (3):458-464.

146. Nakayama Y, Omote K, Kawamata T, Namiki A. 2004. Role of prostaglandin receptor subtype EP1 in prostaglandin E2-induced nociceptive transmission in the rat spinal dorsal horn. *Brain Res*, 1010 (1-2):62-68.
147. Nascimento MS, Carregaro V, Lima-Junior DS, Costa DL, Ryffel B, Duthie MS, de Jesus A, de Almeida RP, da Silva JS. 2015. Interleukin 17A acts synergistically with interferon gamma to promote protection against *Leishmania infantum* infection. *J Infect Dis*, 211 (6):1015-1026.
148. Neubauer K, Lindhorst A, Tron K, Ramadori G, Saile B. 2008. Decrease of PECAM-1-gene-expression induced by proinflammatory cytokines IFN-gamma and IFN-alpha is reversed by TGF-beta in sinusoidal endothelial cells and hepatic mononuclear phagocytes. *BMC Physiol*, 8:9.
149. Neufert C, Becker C, Wirtz S, Fantini MC, Weigmann B, Galle PR, Neurath MF. 2007. IL-27 controls the development of inducible regulatory T cells and Th17 cells via differential effects on STAT1. *Eur J Immunol*, 37 (7):1809-1816.
150. Neumann H, Schmidt H, Wilharm E, Behrens L, Wekerle H. 1997. Interferon gamma gene expression in sensory neurons: evidence for autocrine gene regulation. *J Exp Med*, 186 (12):2023-2031.
151. Nichols JR, Aldrich AL, Mariani MM, Vidlak D, Esen N, Kielian T. 2009. TLR2 deficiency leads to increased Th17 infiltrates in experimental brain abscesses. *J Immunol*, 182 (11):7119-7130.
152. Nistala K, Adams S, Cambrook H, Ursu S, Olivito B, de Jager W, Evans JG, Cimaz R, Bajaj-Elliott M, Wedderburn LR. 2010. Th17 plasticity in human autoimmune arthritis is driven by the inflammatory environment. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107 (33):14751-14756.
153. Nourshargh S, Alon R. 2014. Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*, 41 (5):694-707.
154. Nurieva R, Yang XO, Chung Y, Dong C. 2009. Cutting edge: in vitro generated Th17 cells maintain their cytokine expression program in normal but not lymphopenic hosts. *J Immunol*, 182 (5):2565-2568.
155. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Ma L, Schluns K, Tian Q, Watowich SS, Jetten AM, Dong C. 2007. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*, 448 (7152):480-483.
156. O'Connor W, Jr., Kamanaka M, Booth CJ, Town T, Nakae S, Iwakura Y, Kolls JK, Flavell RA. 2009. A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. *Nat Immunol*, 10 (6):603-609.
157. O'Donnell LA, Henkins KM, Kulkarni A, Matullo CM, Balachandran S, Pattisapu AK, Rall GF. 2015. Interferon gamma induces protective non-canonical signaling pathways in primary neurons. *J Neurochem*, 135 (2):309-322.

- 158.O'Shea JJ, Steward-Tharp SM, Laurence A, Watford WT, Wei L, Adamson AS, Fan S. 2009. Signal transduction and Th17 cell differentiation. *Microbes Infect*, 11 (5):599-611.
- 159.Oestreich KJ, Weinmann AS. 2012. Transcriptional mechanisms that regulate T helper 1 cell differentiation. *Curr Opin Immunol*, 24 (2):191-195.
- 160.Ogura H, Murakami M, Okuyama Y, Tsuruoka M, Kitabayashi C, Kanamoto M, Nishihara M, Iwakura Y, Hirano T. 2008. Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction. *Immunity*, 29 (4):628-636.
- 161.Oh S, Hwang ES. 2014. The role of protein modifications of T-bet in cytokine production and differentiation of T helper cells. *J Immunol Res*, 2014:589672.
- 162.Oh YJ, Shin JH, Won HY, Hwang ES. 2015. Anti-proliferative Activity of T-bet. *Immune Netw*, 15 (4):199-205.
- 163.Onishi RM, Gaffen SL. 2010. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*, 129 (3):311-321.
- 164.Onishi RM, Park SJ, Hanel W, Ho AW, Maitra A, Gaffen SL. 2010. SEF/IL-17R (SEFIR) is not enough: an extended SEFIR domain is required for il-17RA-mediated signal transduction. *J Biol Chem*, 285 (43):32751-32759.
- 165.Owaki T, Asakawa M, Fukai F, Mizuguchi J, Yoshimoto T. 2006a. IL-27 induces Th1 differentiation via p38 MAPK/T-bet- and intercellular adhesion molecule-1/LFA-1/ERK1/2-dependent pathways. *J Immunol*, 177 (11):7579-7587.
- 166.Owaki T, Asakawa M, Kamiya S, Takeda K, Fukai F, Mizuguchi J, Yoshimoto T. 2006b. IL-27 suppresses CD28-mediated [correction of medicated] IL-2 production through suppressor of cytokine signaling 3. *J Immunol*, 176 (5):2773-2780.
- 167.Owaki T, Asakawa M, Morishima N, Hata K, Fukai F, Matsui M, Mizuguchi J, Yoshimoto T. 2005. A role for IL-27 in early regulation of Th1 differentiation. *J Immunol*, 175 (4):2191-2200.
- 168.Paintlia MK, Paintlia AS, Singh AK, Singh I. 2011. Synergistic activity of interleukin-17 and tumor necrosis factor-alpha enhances oxidative stress-mediated oligodendrocyte apoptosis. *J Neurochem*, 116 (4):508-521.
- 169.Park BV, Pan F. 2015. The role of nuclear receptors in regulation of Th17/Treg biology and its implications for diseases. *Cell Mol Immunol*, 12 (5):533-542.
- 170.Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. 2005. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*, 6 (11):1133-1141.
- 171.Patel KD, Cuvelier SL, Wiehler S. 2002. Selectins: critical mediators of leukocyte recruitment. *Semin Immunol*, 14 (2):73-81.

172. Peine M, Rausch S, Helmstetter C, Frohlich A, Hegazy AN, Kuhl AA, Grevelding CG, Hofer T, Hartmann S, Lohning M. 2013. Stable T-bet(+)GATA-3(+) Th1/Th2 hybrid cells arise in vivo, can develop directly from naive precursors, and limit immunopathologic inflammation. *PLoS Biol*, 11 (8):e1001633.
173. Pereira L, Medina R, Baena M, Planas AM, Pozas E. 2015. IFN gamma regulates proliferation and neuronal differentiation by STAT1 in adult SVZ niche. *Front Cell Neurosci*, 9:270.
174. Pestka S, Krause CD, Walter MR. 2004. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev*, 202:8-32.
175. Peters A, Fowler KD, Chalmin F, Merkler D, Kuchroo VK, Pot C. 2015. IL-27 Induces Th17 Differentiation in the Absence of STAT1 Signaling. *J Immunol*, 195 (9):4144-4153.
176. Peters A, Lee Y, Kuchroo VK. 2011. The many faces of Th17 cells. *Curr Opin Immunol*, 23 (6):702-706.
177. Pinto LG, Cunha TM, Vieira SM, Lemos HP, Verri WA, Jr., Cunha FQ, Ferreira SH. 2010. IL-17 mediates articular hypernociception in antigen-induced arthritis in mice. *Pain*, 148 (2):247-256.
178. Podolsky MA, Solomos AC, Durso LC, Evans SM, Rall GF, Rose RW. 2012. Extended JAK activation and delayed STAT1 dephosphorylation contribute to the distinct signaling profile of CNS neurons exposed to interferon-gamma. *J Neuroimmunol*, 251 (1-2):33-38.
179. Pot C, Apetoh L, Awasthi A, Kuchroo VK. 2011. Induction of regulatory Tr1 cells and inhibition of T(H)17 cells by IL-27. *Semin Immunol*, 23 (6):438-445.
180. Qian Y, Liu C, Hartupée J, Altuntas CZ, Gulen MF, Jane-Wit D, Xiao J, Lu Y, Giltiay N, Liu J, Kordula T, Zhang QW, Vallance B, Swaidani S, Aronica M, Tuohy VK, Hamilton T, Li X. 2007. The adaptor Act1 is required for interleukin 17-dependent signaling associated with autoimmune and inflammatory disease. *Nat Immunol*, 8 (3):247-256.
181. Ramana CV, Gil MP, Schreiber RD, Stark GR. 2002. Stat1-dependent and -independent pathways in IFN-gamma-dependent signaling. *Trends Immunol*, 23 (2):96-101.
182. Rane SG, Reddy EP. 2000. Janus kinases: components of multiple signaling pathways. *Oncogene*, 19 (49):5662-5679.
183. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. 2015. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*, 74 (1):5-17.

184. Ren G, Zhao X, Zhang L, Zhang J, L'Huillier A, Ling W, Roberts AI, Le AD, Shi S, Shao C, Shi Y. 2010. Inflammatory cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression. *J Immunol*, 184 (5):2321-2328.
185. Richter F, Natura G, Ebbinghaus M, von Banchet GS, Hensellek S, Konig C, Brauer R, Schaible HG. 2012. Interleukin-17 sensitizes joint nociceptors to mechanical stimuli and contributes to arthritic pain through neuronal interleukin-17 receptors in rodents. *Arthritis Rheum*, 64 (12):4125-4134.
186. Richter F, Natura G, Loser S, Schmidt K, Viisanen H, Schaible HG. 2010. Tumor necrosis factor causes persistent sensitization of joint nociceptors to mechanical stimuli in rats. *Arthritis Rheum*, 62 (12):3806-3814
187. Richter, F., Wandt, S., Fink, J., Rauschelbach, H., Witzhausen, H., Schaible, H.-G. Different effects of the cytokine Interferon-g on slowly or fast conducting nociceptive nerve fibers in rat in vivo. Program No. 534.23. 2014 Neuroscience Meeting Planner. Washington DC.: Society for Neuroscience, 2014. Online
188. Richter, F; Wandt, S.; Slowik, F.; Schaible, H.-G. Effects of the cytokine Interferon-gamma in combination with other cytokines on slowly or fast conducting nerve fibers in rat. In vivo. Program No. 707.04, 2016 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA.: Society for Neuroscience, 2016. Online.
189. Robertson G, Hirst M, Bainbridge M, Bilenky M, Zhao Y, Zeng T, Euskirchen G, Bernier B, Varhol R, Delaney A, Thiessen N, Griffith OL, He A, Marra M, Snyder M, Jones S. 2007. Genome-wide profiles of STAT1 DNA association using chromatin immunoprecipitation and massively parallel sequencing. *Nat Methods*, 4 (8):651-657.
190. Rose RW, Vorobyeva AG, Skipworth JD, Nicolas E, Rall GF. 2007. Altered levels of STAT1 and STAT3 influence the neuronal response to interferon gamma. *J Neuroimmunol*, 192 (1-2):145-156.
191. Samuel CE. 2001. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev*, 14 (4):778-809, table of contents.
192. Schafers M, Svensson CI, Sommer C, Sorkin LS. 2003. Tumor necrosis factor-alpha induces mechanical allodynia after spinal nerve ligation by activation of p38 MAPK in primary sensory neurons. *J Neurosci*, 23 (7):2517-2521.
193. Schaible HG. 2014. Nociceptive neurons detect cytokines in arthritis. *Arthritis Res Ther*, 16 (5):470.
194. Schlaak JF, Schwarting A, Knolle P, Meyer zum Buschenfelde KH, Mayet W. 1995. Effects of Th1 and Th2 cytokines on cytokine production and ICAM-1 expression on synovial fibroblasts. *Ann Rheum Dis*, 54 (7):560-565.

- 195.Schmitt N, Ueno H. 2015. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol*, 34:130-136.
- 196.Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. 2004. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol*, 75 (2):163-189.
- 197.Schulz EG, Mariani L, Radbruch A, Hofer T. 2009. Sequential polarization and imprinting of type 1 T helper lymphocytes by interferon-gamma and interleukin-12. *Immunity*, 30 (5):673-683.
- 198.Segond von Banchet G, Boettger MK, Konig C, Iwakura Y, Brauer R, Schaible HG. 2013. Neuronal IL-17 receptor upregulates TRPV4 but not TRPV1 receptors in DRG neurons and mediates mechanical but not thermal hyperalgesia. *Mol Cell Neurosci*, 52:152-160.
- 199.Shen F, Li N, Gade P, Kalvakolanu DV, Weibley T, Doble B, Woodgett JR, Wood TD, Gaffen SL. 2009. IL-17 receptor signaling inhibits C/EBPbeta by sequential phosphorylation of the regulatory 2 domain. *Sci Signal*, 2 (59):ra8.
- 200.Shtrichman R, Samuel CE. 2001. The role of gamma interferon in antimicrobial immunity. *Curr Opin Microbiol*, 4 (3):251-259.
- 201.Song JH, Wang CX, Song DK, Wang P, Shuaib A, Hao C. 2005. Interferon gamma induces neurite outgrowth by up-regulation of p35 neuron-specific cyclin-dependent kinase 5 activator via activation of ERK1/2 pathway. *J Biol Chem*, 280 (13):12896-12901.
- 202.Staykova M, Maxwell L, Willenborg D. 2000. Kinetics and polarization of the membrane expression of cytokine-induced ICAM-1 on rat brain endothelial cells. *J Neuropathol Exp Neurol*, 59 (2):120-128.
- 203.Stettner M, Lohmann B, Wolfram K, Weinberger JP, Dehmel T, Hartung HP, Mausberg AK, Kieseier BC. 2014. Interleukin-17 impedes Schwann cell-mediated myelination. *J Neuroinflammation*, 11:63.
- 204.Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, Huang E, Tato CM, Johnson LM, Villarino AV, Huang Q, Yoshimura A, Sehy D, Saris CJ, O'Shea JJ, Hennighausen L, Ernst M, Hunter CA. 2006. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat Immunol*, 7 (9):937-945.
- 205.Sun D, Novotny M, Bulek K, Liu C, Li X, Hamilton T. 2011. Treatment with IL-17 prolongs the half-life of chemokine CXCL1 mRNA via the adaptor TRAF5 and the splicing-regulatory factor SF2 (ASF). *Nat Immunol*, 12 (9):853-860.
- 206.Tajima M, Wakita D, Satoh T, Kitamura H, Nishimura T. 2011. IL-17/IFN-gamma double producing CD8+ T (Tc17/IFN-gamma) cells: a novel cytotoxic T-cell subset converted from Tc17 cells by IL-12. *Int Immunol*, 23 (12):751-759.

207. Takaoka A, Yanai H. 2006. Interferon signalling network in innate defence. *Cell Microbiol*, 8 (6):907-922.
208. Takeda A, Hamano S, Yamanaka A, Hanada T, Ishibashi T, Mak TW, Yoshimura A, Yoshida H. 2003. Cutting edge: role of IL-27/WSX-1 signaling for induction of T-bet through activation of STAT1 during initial Th1 commitment. *J Immunol*, 170 (10):4886-4890.
209. Thieu VT, Yu Q, Chang HC, Yeh N, Nguyen ET, Sehra S, Kaplan MH. 2008. Signal transducer and activator of transcription 4 is required for the transcription factor T-bet to promote T helper 1 cell-fate determination. *Immunity*, 29 (5):679-690.
210. Timofeeva OA, Chasovskikh S, Lonskaya I, Tarasova NI, Khavrutskii L, Tarasov SG, Zhang X, Korostyshevskiy VR, Cheema A, Zhang L, Dakshanamurthy S, Brown ML, Dritschilo A. 2012. Mechanisms of unphosphorylated STAT3 transcription factor binding to DNA. *J Biol Chem*, 287 (17):14192-14200.
211. Toh ML, Kawashima M, Zrioual S, Hot A, Miossec P, Miossec P. 2009. IL-17 inhibits human Th1 differentiation through IL-12R beta 2 downregulation. *Cytokine*, 48 (3):226-230.
212. Tran CN, Davis MJ, Tesmer LA, Endres JL, Motyl CD, Smuda C, Somers EC, Chung KC, Urquhart AG, Lundy SK, Kovats S, Fox DA. 2007. Presentation of arthritogenic peptide to antigen-specific T cells by fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheum*, 56 (5):1497-1506.
213. Trinchieri G. 2010. Type I interferon: friend or foe? *J Exp Med*, 207 (10):2053-2063.
214. Tsai HC, Velichko S, Hung LY, Wu R. 2013. IL-17A and Th17 cells in lung inflammation: an update on the role of Th17 cell differentiation and IL-17R signaling in host defense against infection. *Clin Dev Immunol*, 2013:267971.
215. Vahedi G, Takahashi H, Nakayamada S, Sun HW, Sartorelli V, Kanno Y, O'Shea JJ. 2012. STATs shape the active enhancer landscape of T cell populations. *Cell*, 151 (5):981-993.
216. van den Berg WB, Miossec P. 2009. IL-17 as a future therapeutic target for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 5 (10):549-553.
217. Vikman KS, Hill RH, Backstrom E, Robertson B, Kristensson K. 2003. Interferon-gamma induces characteristics of central sensitization in spinal dorsal horn neurons in vitro. *Pain*, 106 (3):241-251.
218. Villarino AV, Laurence A. 2015. IL-1 watches the watchmen. *Nat Immunol*, 16 (3):226-227.
219. Villarino AV, Gallo E, Abbas AK. 2010. STAT1-activating cytokines limit Th17 responses through both T-bet-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol*, 185 (11):6461-6471.

220. Volpe E, Servant N, Zollinger R, Bogiatzi SI, Hupe P, Barillot E, Soumelis V. 2008. A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses. *Nat Immunol*, 9 (6):650-657.
221. Voo KS, Wang YH, Santori FR, Boggiano C, Wang YH, Arima K, Bover L, Hanabuchi S, Khalili J, Marinova E, Zheng B, Littman DR, Liu YJ. 2009. Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106 (12):4793-4798.
222. Wagner AH, Conzelmann M, Fitzer F, Giese T, Gulow K, Falk CS, Kramer OH, Dietrich S, Hecker M, Luft T. 2015. JAK1/STAT3 activation directly inhibits IL-12 production in dendritic cells by preventing CDK9/P-TEFb recruitment to the p35 promoter. *Biochem Pharmacol*, 96 (1):52-64.
223. Waisman A, Hauptmann J, Regen T. 2015. The role of IL-17 in CNS diseases. *Acta Neuropathol*, 129 (5):625-637.
224. Wang CY, Chiang TH, Chen CL, Tseng PC, Chien SY, Chuang YJ, Yang TT, Hsieh CY, Choi PC, Lin CF. 2014. Autophagy facilitates cytokine-induced ICAM-1 expression. *Innate Immun*, 20 (2):200-213.
225. Wang DD, Zhao YF, Wang GY, Sun B, Kong QF, Zhao K, Zhang Y, Wang JH, Liu YM, Mu LL, Wang DS, Li HL. 2009. IL-17 potentiates neuronal injury induced by oxygen-glucose deprivation and affects neuronal IL-17 receptor expression. *J Neuroimmunol*, 212 (1-2):17-25.
226. Wang J, Lin W, Popko B, Campbell IL. 2004. Inducible production of interferon-gamma in the developing brain causes cerebellar dysplasia with activation of the Sonic hedgehog pathway. *Mol Cell Neurosci*, 27 (4):489-496.
227. Wang X, Deckert M, Xuan NT, Nishanth G, Just S, Waisman A, Naumann M, Schluter D. 2013. Astrocytic A20 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting NF-kappaB- and STAT1-dependent chemokine production in astrocytes. *Acta Neuropathol*.
228. Wei G, Wei L, Zhu J, Zang C, Hu-Li J, Yao Z, Cui K, Kanno Y, Roh TY, Watford WT, Schones DE, Peng W, Sun HW, Paul WE, O'Shea JJ, Zhao K. 2009. Global mapping of H3K4me3 and H3K27me3 reveals specificity and plasticity in lineage fate determination of differentiating CD4+ T cells. *Immunity*, 30 (1):155-167.
229. Wei L, Laurence A, Elias KM, O'Shea JJ. 2007. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *J Biol Chem*, 282 (48):34605-34610.
230. Wen X, Kudo T, Payne L, Wang X, Rodgers L, Suzuki Y. 2010. Predominant interferon-gamma-mediated expression of CXCL9, CXCL10, and CCL5 proteins in the brain

- during chronic infection with *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice resistant to development of toxoplasmic encephalitis. *J Interferon Cytokine Res*, 30 (9):653-660.
231. Weyand CM, Younge BR, Goronzy JJ. 2011. IFN-gamma and IL-17: the two faces of T-cell pathology in giant cell arteritis. *Curr Opin Rheumatol*, 23 (1):43-49.
 232. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, Basham B, Smith K, Chen T, Morel F, Lecron JC, Kastelein RA, Cua DJ, McClanahan TK, Bowman EP, de Waal Malefyt R. 2007. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol*, 8 (9):950-957.
 233. Wong WF, Kohu K, Chiba T, Sato T, Satake M. 2011. Interplay of transcription factors in T-cell differentiation and function: the role of Runx. *Immunology*, 132 (2):157-164.
 234. Yan Y, Ding X, Li K, Ciric B, Wu S, Xu H, Gran B, Rostami A, Zhang GX. 2012. CNS-specific therapy for ongoing EAE by silencing IL-17 pathway in astrocytes. *Mol Ther*, 20 (7):1338-1348.
 235. Yang J, Sundrud MS, Skepner J, Yamagata T. 2014. Targeting Th17 cells in autoimmune diseases. *Trends Pharmacol Sci*, 35 (10):493-500.
 236. Yang XO, Nurieva R, Martinez GJ, Kang HS, Chung Y, Pappu BP, Shah B, Chang SH, Schluns KS, Watowich SS, Feng XH, Jetten AM, Dong C. 2008a. Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs. *Immunity*, 29 (1):44-56.
 237. Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, Ma L, Shah B, Panopoulos AD, Schluns KS, Watowich SS, Tian Q, Jetten AM, Dong C. 2008b. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity*, 28 (1):29-39.
 238. Yang XP, Ghoreschi K, Steward-Tharp SM, Rodriguez-Canales J, Zhu J, Grainger JR, Hirahara K, Sun HW, Wei L, Vahedi G, Kanno Y, O'Shea JJ, Laurence A. 2011. Opposing regulation of the locus encoding IL-17 through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5. *Nat Immunol*, 12 (3):247-254.
 239. Yang Y, Ochando JC, Bromberg JS, Ding Y. 2007. Identification of a distant T-bet enhancer responsive to IL-12/Stat4 and IFNgamma/Stat1 signals. *Blood*, 110 (7):2494-2500.
 240. Yang Y, Xu J, Niu Y, Bromberg JS, Ding Y. 2008c. T-bet and eomesodermin play critical roles in directing T cell differentiation to Th1 versus Th17. *J Immunol*, 181 (12):8700-8710.
 241. Yang Y, Weiner J, Liu Y, Smith AJ, Huss DJ, Winger R, Peng H, Cravens PD, Racke MK, Lovett-Racke AE. 2009. T-bet is essential for encephalitogenicity of both Th1 and Th17 cells. *J Exp Med*, 206 (7):1549-1564.

242. Yao Z, Spriggs MK, Derry JM, Strockbine L, Park LS, VandenBos T, Zappone JD, Painter SL, Armitage RJ. 1997. Molecular characterization of the human interleukin (IL)-17 receptor. *Cytokine*, 9 (11):794-800.
243. Yeh WI, McWilliams IL, Harrington LE. 2014. IFN γ inhibits Th17 differentiation and function via Tbet-dependent and Tbet-independent mechanisms. *J Neuroimmunol*, 267 (1-2):20-27.
244. Yellin MJ, Winikoff S, Fortune SM, Baum D, Crow MK, Lederman S, Chess L. 1995. Ligation of CD40 on fibroblasts induces CD54 (ICAM-1) and CD106 (VCAM-1) up-regulation and IL-6 production and proliferation. *J Leukoc Biol*, 58 (2):209-216.
245. Yi H, Bai Y, Zhu X, Lin L, Zhao L, Wu X, Buch S, Wang L, Chao J, Yao H. 2014. IL-17A induces MIP-1 α expression in primary astrocytes via Src/MAPK/PI3K/NF- κ B pathways: implications for multiple sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol*, 9 (5):629-641.
246. Yockell-Lelievre J, Spriet C, Cantin P, Malenfant P, Heliot L, de Launoit Y, Audette M. 2009. Functional cooperation between Stat-1 and ets-1 to optimize icam-1 gene transcription. *Biochem Cell Biol*, 87 (6):905-918.
247. Zanin-Zhorov A, Weiss JM, Nyuydzefe MS, Chen W, Scher JU, Mo R, Depoil D, Rao N, Liu B, Wei J, Lucas S, Koslow M, Roche M, Schueller O, Weiss S, Poyurovsky MV, Tonra J, Hippen KL, Dustin ML, Blazar BR, Liu CJ, Waksal SD. 2014. Selective oral ROCK2 inhibitor down-regulates IL-21 and IL-17 secretion in human T cells via STAT3-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111 (47):16814-16819.
248. Zelenka M, Schafer M, Sommer C. 2005. Intraneural injection of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropathic pain. *Pain*, 116 (3):257-263.
249. Zepp J, Wu L, Li X. 2011. IL-17 receptor signaling and T helper 17-mediated autoimmune demyelinating disease. *Trends Immunol*, 32 (5):232-239.
250. Zhang B, Liu C, Qian W, Han Y, Li X, Deng J. 2014. Structure of the unique SEFIR domain from human interleukin 17 receptor A reveals a composite ligand-binding site containing a conserved α -helix for Act1 binding and IL-17 signaling. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 70 (Pt 5):1476-1483.
251. Zhang F, Meng G, Strober W. 2008. Interactions among the transcription factors Runx1, ROR γ t and Foxp3 regulate the differentiation of interleukin 17-producing T cells. *Nat Immunol*, 9 (11):1297-1306.
252. Zhang J, Alcaide P, Liu L, Sun J, He A, Luscinskas FW, Shi GP. 2011. Regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by mast cells, macrophages, and neutrophils. *PLoS One*, 6 (1):e14525.

253. Zhang JM, Li H, Liu B, Brull SJ. 2002. Acute topical application of tumor necrosis factor alpha evokes protein kinase A-dependent responses in rat sensory neurons. *J Neurophysiol*, 88 (3):1387-1392.
254. Zhang Y, Wang H, Ren J, Tang X, Jing Y, Xing D, Zhao G, Yao Z, Yang X, Bai H. 2012. IL-17A synergizes with IFN-gamma to upregulate iNOS and NO production and inhibit chlamydial growth. *PLoS One*, 7 (6):e39214.
255. Zheng Y, Sun L, Jiang T, Zhang D, He D, Nie H. 2014. TNFalpha promotes Th17 cell differentiation through IL-6 and IL-1beta produced by monocytes in rheumatoid arthritis. *J Immunol Res*, 2014:385352.
256. Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, Kasman I, Eastham-Anderson J, Wu J, Ouyang W. 2007. Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature*, 445 (7128):648-651.
257. Zheng Y, Wang Z, Deng L, Zhang G, Yuan X, Huang L, Xu W, Shen L. 2015. Modulation of STAT3 and STAT5 activity rectifies the imbalance of Th17 and Treg cells in patients with acute coronary syndrome. *Clin Immunol*, 157 (1):65-77.
258. Zhong B, Liu X, Wang X, Chang SH, Liu X, Wang A, Reynolds JM, Dong C. 2012. Negative regulation of IL-17-mediated signaling and inflammation by the ubiquitin-specific protease USP25. *Nat Immunol*, 13 (11):1110-1117.
259. Zhou L, Chong MM, Littman DR. 2009. Plasticity of CD4+ T cell lineage differentiation. *Immunity*, 30 (5):646-655.
260. Zhou L, Ivanov, II, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy DE, Leonard WJ, Littman DR. 2007. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol*, 8 (9):967-974.
261. Zhou L, Lopes JE, Chong MM, Ivanov, II, Min R, Victora GD, Shen Y, Du J, Rubtsov YP, Rudensky AY, Ziegler SF, Littman DR. 2008. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature*, 453 (7192):236-240.
262. Zhu S, Qian Y. 2012. IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci (Lond)*, 122 (11):487-511.
263. Zielinski CE, Mele F, Aschenbrenner D, Jarrossay D, Ronchi F, Gattorno M, Monticelli S, Lanzavecchia A, Sallusto F. 2012. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN-gamma or IL-10 and are regulated by IL-1beta. *Nature*, 484 (7395):514-518.
264. Zimmermann T, Kunisch E, Pfeiffer R, Hirth A, Stahl HD, Sack U, Laube A, Liesaus E, Roth A, Palombo-Kinne E, Emmrich F, Kinne RW. 2001. Isolation and characterization of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts from primary culture--primary culture cells markedly differ from fourth-passage cells. *Arthritis Res*, 3 (1):72-76.

11. Anhang

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Franz Slowik
Geburtsdatum:	14.06.1992
Geburtsort:	Altdöbern
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	Deutsch

Schulbildung

08/2007 bis 06/2012	Paul-Fahlich Gymnasium Lübbenau/Spreewald
08/2004 bis 07/2007	Realschule Ehm Welk Lübbenau/Spreewald
08/1998 bis 06/2004	Grundschule Missen

Studium

Seit 10/2012	Studium im Fachbereich Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
09/2013	Abschluss der naturwissenschaftlichen Vorprüfung
03/2015	Abschluss 1. Staatsexamen

Sonstige Aktivitäten

10/2013 bis 12/2014	Tutor und Repetitor im Fachbereich Anatomie
---------------------	---

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich Franz Slowik,
dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,
ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Professor Dr. H.-G. Schaible, Herr Professor Dr. F. Richter

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den

Franz Slowik (Verfasser)